

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

DISSERTAÇÃO

**Etiologia e Controle da Mancha-de-estenfílio do
Tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no Estado do
Rio de Janeiro**

Dauciléia Paula Domingues

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**ETIOLOGIA E CONTROLE DA MANCHA-DE-ESTENFÍLIO DO
TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum* L.) NO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO**

DAUCILÉIA PAULA DOMINGUES

Sob a Orientação da Professora
Margarida Goréte Ferreira do Carmo

e Co-orientação do Pesquisador
Dartanhã José Soares

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2012

635.642

D671e

T

Domingues, Dauciléia Paula, 1983-
Etiologia e controle da mancha-de-
estenfilio do tomateiro (*Solanum*
lycopersicum L.) no Estado do Rio de
Janeiro / Dauciléia Paula Domingues. - 2012.
81 f.: il.

Orientador: Margarida Goréte Ferreira do
Carmo.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Agronomia.

Bibliografia: f.70-80.

1. Tomate - Cultivo - Teses. 2. Tomate
- Cultivo - Rio de Janeiro (Estado) -
Teses. 3. Tomate - Doenças e pragas -
Controle - Rio de Janeiro (Estado) -
Teses. I. Carmo, Margarida Goréte Ferreira
do, 1963- II. Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Agronomia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO FITOTECNIA**

DAUCILÉIA PAULA DOMINGUES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/02/2012

Margarida Goréte Ferreira do Carmo, Dr^a (UFRRJ).
(Orientadora)

Maria do Carmo de Araújo Fernandes, Dr^a (PESAGRO-RIO)

Elson de Carvalho Viegas, Dr (UFRRJ)

DEDICO

A DEUS

COM AMOR

Aos meus pais Eufrazio e Maria.
Aos meus irmãos Devany, Paulo Sérgio,
Gilvan, Jusélio, Dalcimere e Dalcione.

COM CARINHO

Aos meus sobrinhos Lucas, Larissa, Paulo Henrique,
Natália, Ana Carolina, Katarina e Maria Cecília.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por estar sempre presente na minha caminhada, sendo o meu refúgio e fortaleza. “ *A Deus levantei a minha voz e ele inclinou para mim os ouvidos*” (Salmo 77).

A minha orientadora Margarida Goréte Ferreira do Carmo, pela orientação, confiança, paciência, incentivo e conhecimento transmitido, uma pessoa a quem tenho muito carinho, respeito e admiração e a quem me inspiro para ser uma profissional e pessoa melhor.

Ao prof^o Aldir de Oliveira de Carvalho (*in memoriam*) pelos cinco anos de convivência, confiança e ensinamentos que contribuíram para a minha formação.

Ao co-orientador Dartanhã José Soares pela co-orientação e caracterização dos isolados.

Aos membros da banca examinadora, Maria do Carmo de Araújo Fernandes e Elson de Carvalho Viegas pela contribuição.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia (CPGF) pela oportunidade concedida para realização do curso de mestrado.

A CAPES pela concessão da bolsa que possibilitou a execução deste trabalho.

A minha grande amiga Eliete pela força, paciência, amizade, ajuda incondicional durante os momentos mais difíceis, palavras de incentivo e pelos bons momentos que passamos durante estes anos (obrigada por ampliar o conceito de amizade).

A Lígia pela ajuda na estufa e laboratório, pelas caronas até o bandeirão e pelos momentos de diversão.

Aos estagiários Carlos, Carol, Fernanda e Maurílio pela ajuda durante a condução dos experimentos, principalmente pelas inúmeras leituras que fazíamos no microscópio (nosso grande amigo) e no experimento de campo.

A Suelem pelos vários momentos que passamos juntas trabalhando no laboratório, (principalmente aos sábados), pelas palavras de incentivo e risadas nos momentos de descontração.

A Débora pela amizade e apoio nos momentos difíceis.

Ao meu amigo Evandro, pela amizade e ajuda incondicional em vários momentos da minha vida.

Aos amigos Rafael, Camila, Dani, Hanny e Sumaya pela força e amizade.

Aos meus queridos pais e irmãos, pela confiança, apoio, incentivos e sonhos em mim depositados durante esta caminhada (Amo muito vocês).

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

DOMINGUES, Dauciléia Paula. **Etiologia e controle da mancha-de-estenfílio do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) no estado do Rio de Janeiro**. 2012, 81p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

A cultura do tomate (*Solanum lycopersicum* L.) está sujeita a várias doenças que atacam a parte aérea da planta. Dentre estas está a mancha-de-estenfílio (*Stemphylium* spp.), de ocorrência generalizada em áreas de cultivo do tomateiro afetando a cultura em diferentes estádios de desenvolvimento, e que tem apresentado maiores incidências e perdas nos últimos anos. O presente trabalho teve como objetivos: 1) determinar as espécies de *Stemphylium* predominante nas lavouras de tomate no estado do Rio de Janeiro; 2) avaliar cultivares comerciais quanto a resistência ao patógeno; 3) testar a ação *in vitro* de produtos alternativos no crescimento micelial, germinação e produção de conídios de cinco isolados; 4) caracterizar os isolados quanto a resistência aos princípios ativos normalmente aplicados no controle químico. A determinação das espécies de *Stemphylium* foi feita com base em características morfológicas - tamanho e cor dos conídios e quantidade de septos presente nos conídios. A caracterização da resistência foi feita em ensaio policíclico, em condições de campo, com dez genótipos: Carmen, Débora Plus, Santa Clara, Serato, Lumi, Forty, Jumbo, Dominador, Sweet Grape e Perinha Água Branca. Com os dados de severidade da doença calcularam-se os valores da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). E finalmente avaliou-se a sensibilidade de cinco isolados a produtos alternativos (extratos de canela, alho, pimenta e fumo, e às caldas viçosa, bordalesa, sulfocálcica e sulfocálcica em emulsão) e quatro fungicidas recomendados para o controle da doença (clorotalonil, oxicloreto de cobre, tebuconazole e mancozebe). As avaliações foram feitas em testes *in vitro* em meio V8 com base na inibição do crescimento micelial, produção e germinação de conídios. Todos os isolados testados pertencem à espécie *Stemphylium solani* e apresentam características diferentes quanto à capacidade de crescimento da colônia, germinação e produção de conídios. Entre as dez cultivares avaliadas o híbrido Sweet Grape apresentou menor valor de AACPD, sendo considerado o menos suscetível à mancha-de-estenfílio, enquanto os híbridos Serato, Lumi e Carmem foram os que apresentaram maiores valores de AACPD. Entre os produtos alternativos, destacaram-se as caldas viçosa e bordalesa como os mais eficientes na redução do crescimento micelial e germinação dos conídios de *S. solani*. Os extratos de alho, pimenta, canela e fumo foram menos eficientes tendo em alguns casos estimulado o crescimento micelial do patógeno. O fungicida mancozebe foi o mais eficiente na redução do crescimento micelial do patógeno, proporcionando inibição total a partir da concentração de 1%, seguido do tebuconazole que inibiu totalmente o crescimento a partir da concentração de 50%. Nenhum dos produtos inibiu em 100% a germinação dos conídios, entretanto o mancozebe proporcionou maior inibição da germinação. Os isolados apresentaram baixa sensibilidade ao fungicida oxicloreto de cobre que foi o menos eficiente na inibição do crescimento micelial e germinação dos conídios. De maneira geral todos os produtos reduziram a esporulação para valores inferiores a 50% da testemunha.

Palavras chave: Resistência. Severidade. Controle.

ABSTRACT

DOMINGUES, Dauciléia Paula. **Etiology and control of *Stemphylium* leaf blight of tomato (*Solanum lycopersicum*) in the state of Rio de Janeiro.** 2012, 81p. Dissertation (master in Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

The tomato crop (*Solanum lycopersicum*) is subject to several diseases that attack the plant canopy. Among these is *Stemphylium* leaf blight (*Stemphylium* spp.), of widespread occurrence in cultivated areas tomato affecting crops in different stages of development, and which has shown higher incidences and losses in recent years. This present study had as objectives: 1) to determine the prevailing species of *Stemphylium* in tomato plantations in the state of Rio de Janeiro; 2) to evaluate commercial cultivars for resistance to the pathogen; 3) test *in vitro* the action of alternative products on the mycelial growth, germination and conidia production of five isolates; 4) to characterize the isolates for resistance to the active ingredients normally used in chemical control. The determination of the *Stemphylium* species was based on morphological characteristics - size and color of conidia and amount of septa present in the conidia. The characterization of the resistance was made in polycyclic test, under field conditions, with ten genotypes: Carmen, Débora Plus, Santa Clara, Serato, Lumi, Forty, Jumbo, Dominator, Sweet Grape and Perinha Água Branca. With the data of disease severity, the values of area under the disease progress curve (AUDPC) were calculated. And finally, we evaluated the sensitivity of five isolates with alternative products (extracts of cinnamon, garlic, pepper and tobacco, and 'calda viçosa', bordeaux mixture, lime sulfur and sulfur emulsion) and four fungicides recommended for disease control (chlorothalonil, copper oxychloride, tebuconazole and mancozeb). The evaluations were made *in vitro* tests on V8 medium based on the inhibition of mycelial growth, germination, and conidia production. All isolates tested belong to the species *Stemphylium solani* and have different characteristics regarding the ability of colony growth, germination and conidia production. Among the ten cultivars assessed, the hybrid Sweet Grape showed lowest AUDPC, being considered less susceptible to *Stemphylium* leaf blight, while the hybrids Serato, Lumi and Carmen showed highest values of AUDPC. Among the alternative products, the mixture viçosa and Bordeaux is called attention as the most effective in reducing the mycelial growth and conidial germination of *S. solani*. The extracts of garlic, pepper, cinnamon and tobacco were less efficient in some cases having stimulated the mycelial growth of the pathogen. The fungicide mancozeb was the most effective in controlling the mycelial growth of the pathogen, allowing total inhibition from the concentration of 1%, followed by tebuconazole that completely inhibited the growth from the concentration of 50%. None of the products inhibited in 100% the conidia germination, however mancozeb provided greater inhibition of germination. The isolates showed low sensitivity to the fungicide copper oxychloride, which was the least effective in inhibiting the mycelial growth and conidial germination. Generally all the products reduced sporulation to less than 50% of control.

Key words: Resistance. Severity. Control.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Sintomas de mancha-de-estenfílio causada por <i>Stemphylium solani</i> em folhas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	7
Figura 2: Conídios de <i>Stemphylium solani</i> coletado em tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	8
Figura 3: Aspecto e coloração das colônias, cultivadas em meio V8, dos isolados SENA 101, SENA 102, SENA 202, SENA 302 e SENA 310 de <i>Stemphylium solani</i> coletados de folhas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>). Seropédica, RJ, 2011.....	23
Figura 4: Precipitação (mm), umidade relativa (%), temperatura máxima e mínima (°C) na área experimental no período de outubro a novembro. Seropédica, UFRRJ, 2011.	25
Figura 5: Progresso da mancha-de-estenfílio causada, por <i>Stemphylium solani</i> , em dez genótipos de tomateiro.	26
Figura 6: Variação dos valores de AACPD, para a mancha-de-estenfílio causada por <i>Stemphylium solani</i> , em função da posição das folhas na planta em dez genótipos de tomateiro.....	27
Figura 7: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 310, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclóreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.	64
Figura 8: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 202, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclóreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.	65
Figura 9: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 302, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclóreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.	66
Figura 10: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 101, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclóreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.	67
Figura 11: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 102, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclóreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.	68

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Isolados de <i>Stemphylium</i> spp., coletados no estado do Rio de Janeiro e utilizados nos ensaios.....	14
Tabela 2: Produtos avaliados, parte da planta de onde foram obtidos e concentração final. Seropédica, 2011.	18
Tabela 3: Fungicidas registrados no MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) e utilizados para inibição do crescimento micelial, germinação e produção de conídios no controle da mancha-de-estenfílio, causada por <i>Stemphylium</i> spp.....	20
Tabela 4: Análise de variância para efeito do isolado de <i>Stemphylium solani</i> sobre a taxa de crescimento micelial, expresso pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), germinação dos conídios (%), número de tubo germinativo por conídio germinado (NTGE) e número de conídios produzidos por mm ² de colônia.	24
Tabela 5: Efeito de isolado sobre o crescimento micelial (AACC), esporulação (conídios.mm ⁻²) em meio V8 e porcentagem de germinação dos conídios e número de tubos germinativos por conídio germinado (NTGE) de cinco isolados de <i>Stemphylium solani</i>	24
Tabela 6: Análise de variância para o efeito de genótipo de tomateiro sobre o progresso da mancha-de-estenfílio, causada por <i>Stemphylium</i> spp. expresso pelos valores de AACPD calculados para todas as folhas da planta e para a planta inteira.	30
Tabela 7: Efeito de genótipo de tomateiro sobre o progresso da mancha-de-estenfílio, causada por <i>Stemphylium</i> spp., expresso pelos valores de AACPD calculados para todas as folhas da planta e para a planta inteira.	31
Tabela 8: Análise de variância para efeito de produto e isolado de <i>Stemphylium solani</i> e da interação produtos x isolados sobre a taxa de crescimento da colônia, expresso pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), germinação dos conídios (%), número de tubos germinativos por conídio germinado e do número de conídios produzidos por mm ² de colônia.	41
Tabela 9: Efeito da interação produto e isolado de <i>Stemphylium</i> spp. sobre a taxa de crescimento da colônia, expresso pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), em meio V8.....	42
Tabela 10: Efeito da interação produto e isolado de <i>Stemphylium</i> spp. sobre a germinação dos conídios (%).	45
Tabela 11: Efeito da interação produto e isolado de <i>Stemphylium</i> spp. sobre o número de tubos germinativos por conídio germinado.	46
Tabela 12: Efeito da interação produto x isolado de <i>Stemphylium</i> spp. sobre o número de conídios produzidos por mm ² de colônia em meio V8.....	47
Tabela 13: Efeito de extratos vegetais e de caldas sobre o crescimento micelial (AACC), germinação, número de tubos germinativos por conídio (NTGE) e número de conídios produzidos por mm ² de colônia sobre cinco isolados de <i>Stemphylium solani</i>	48
Tabela 14: Análise de variância para efeito de fungicidas, concentração e interação fungicidas x concentração sobre a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACC), germinação de conídios, número de tubos germinativos por conídio germinado e produção de conídios, em porcentagem em relação à testemunha, de cinco isolados de <i>Stemphylium solani</i>	49
Tabela 15: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 310, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).	52
Tabela 16: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 310.....	53

Tabela 17: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 202, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).	54
Tabela 18: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 202.....	55
Tabela 19: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 302, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).	56
Tabela 20: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 302.....	57
Tabela 21: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 101, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).	58
Tabela 22: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 101.....	59
Tabela 23: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 102, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).	60
Tabela 24: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 102.....	61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Cultura do Tomate	2
2.1.1 Origem	2
2.1.2 Taxonomia e características da planta	2
2.1.3 Situação econômica	2
2.1.4 Exigências climáticas	3
2.2 Mancha-de-estenfílio	3
2.2.1 Importância da doença.....	3
2.2.2 Sintomas e epidemiologia.....	4
2.4 Estratégias de Controle da Mancha-de-estenfílio.....	8
2.4.1 Resistência genética.....	8
2.4.2 Controle químico	9
2.4.2.1 Fungicidas.....	9
2.4.2.2 Produtos alternativos	10
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Caracterização de espécies de <i>Stemphylium</i> predominantes nas lavouras de tomate no Estado do Rio de Janeiro.	14
3.2 Caracterização de cultivares comerciais plantadas no estado do Rio de Janeiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio.....	16
3.3 Efeito de produtos alternativos sobre o crescimento micelial, produção, germinação de conídios e número de tubos germinativo emitido por conídio de <i>Stemphylium solani</i>	17
3.4 Caracterização dos isolados quanto a resistência a fungicidas comerciais	19
3.4.1 Avaliação do efeito dos fungicidas sobre o crescimento micelial.....	21
3.4.2 Avaliação do efeito dos fungicidas sobre a produção de conídios	21
3.4.3 Avaliação do efeito dos fungicidas sobre a germinação de conídios	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	23
4.1. Caracterização das espécies de <i>Stemphylium</i> predominante nas lavouras de tomate no Estado do Rio de Janeiro.	23
4.2 Caracterização de cultivares de tomate plantadas no estado do Rio de Janeiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio.....	25
4.3. Efeito de produtos alternativos sobre o desenvolvimento de <i>Stemphylium solani</i> , <i>in vitro</i>	41
4.4 Efeito de fungicidas sobre o desenvolvimento de <i>Stemphylium solani</i> , <i>in vitro</i>	48
5 CONCLUSÕES	69
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Erro! Indicador não definido.
7 ANEXOS	81

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro tem como centro de origem a América do Sul, mais precisamente entre o Equador e Norte do Chile, sendo encontrado desde regiões de baixa altitude no litoral do Pacífico até regiões com altitude de 2000 metros nos Andes. Apesar de ser uma espécie tipicamente de clima tropical de altitude que se adapta a vários tipos de clima, não tolera temperaturas extremas (Goto, 1995). A espécie cultivada, *Solanum lycopersicum* L. (= *Lycopersicon esculentum* Mill), originou-se da espécie silvestre *L. esculentum* var. *cerasiforme*, que produz frutos do grupo “cereja” (Taylor, 1986).

A produção mundial de tomate em 2009 foi de 130.998.126 t com destaque para a China, o maior produtor (45.365.543 t) (FAO, 2009). O Brasil é o oitavo maior produtor, com 4.310.477 t produzidas, com sua produção concentrada nos estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais. O estado do Rio de Janeiro é o sexto produtor com 216.297 t (IBGE, 2009).

A cultura do tomate está sujeita ao ataque de várias doenças e pragas que podem incidir na cultura desde a sementeira até a pós-colheita. O gasto no controle de pragas e doenças pode representar até 40% do custo total de produção (Salustiano et al., 2006).

A maioria das doenças do tomateiro é de etiologia fúngica, sendo que as mais conhecidas são aquelas associadas à destruição da parte aérea da planta (Lopes et al., 2003). A mancha-de-estenfílio, que pode ser causada por quatro espécies, *Stemphylium solani*, *S. lycopersici*, *S. floridanum* e *S. botryosum*, foi descrita no Brasil em 1945, é hoje de ocorrência generalizada em áreas de cultivo do tomateiro afetando a cultura em diferentes estádios de desenvolvimento (Mello, 1995; Oliveira, 1997). Em condições de ambiente com temperaturas moderadas a altas, 25 a 30°C, e alta umidade relativa do ar, a mancha-de-estenfílio pode causar grandes perdas na cultura por destruir as folhas dos ponteiros e encurtar o ciclo da planta (Kranz, 1977).

O seu controle pode ser feito com o uso de cultivares resistentes e com pulverizações com fungicidas (Filgueira, 2005). No entanto, muitas das cultivares atualmente no mercado não possuem o gene *Sm* que confere resistência ao patógeno (Reis & Boiteux, 2006). Este fato, aliado a negligências no controle químico da doença, tem resultado em aumento de sua incidência nas lavouras de tomate no estado do Rio de Janeiro e no aumento das perdas decorrentes de seu ataque.

Em função desses problemas, o presente trabalho teve por objetivo:

- 1) Determinar as espécies de *Stemphylium* predominantes nas lavouras de tomate no estado do Rio de Janeiro;
- 2) Avaliar cultivares comerciais plantadas no estado do Rio de Janeiro quanto à resistência ao patógeno;
- 3) Testar a ação, *in vitro*, de produtos alternativos no crescimento micelial, produção de conídios, germinação e número de tubos germinativos emitido por conídio germinado.
- 4) Caracterizar, *in vitro*, os isolados quanto à resistência aos princípios ativos aplicados para seu controle.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do Tomate

2.1.1 Origem

O tomateiro tem como centro de origem a região andina na América do Sul em área hoje compreendida desde o Equador, Colômbia, Peru, Bolívia até o norte do Chile. A sua domesticação ocorreu no México, considerado centro de origem secundário, e a sua difusão foi inicialmente feita pelos espanhóis e portugueses (Alvarenga et al., 2004). O tomate apresenta como ancestral selvagem o *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (tomate cereja), espécie indígena da América tropical e subtropical. Todas as espécies apresentam uma distribuição bem definida, exceto o *L. esculentum* var. *cerasiforme*, o único tomate selvagem encontrado fora da área de distribuição do gênero no centro de origem (Warnock, 1988).

A introdução do tomate na Europa foi realizada pelos espanhóis no início do século XVI e a sua produção e consumo somente foram incrementados a partir do século XVIII (Harvey et al., 2002). No Brasil, foi introduzido pelos imigrantes europeus (principalmente italianos, espanhóis e portugueses) no final do século XIX (Alvarenga et al., 2004). Segundo Filgueira (2005), a cultura do tomate começou a ter relevância mundial a partir de 1900 e, atualmente, é o segundo produto olerícola em importância econômica, superado somente pela batata.

2.1.2 Taxonomia e características da planta

O tomateiro é uma planta dicotiledônea pertencente à família botânica Solanaceae e ao gênero *Solanum lycopersicum* L. (= *Lycopersicon esculentum* Miller Mill), diplóide ($2n=24$) e tipicamente autógama (Peralta et al., 2005), sendo as espécies selvagens *S. pimpinellifolium*, *S. habrochaites* (*L. hirsutum*) e *S. peruvianum*, as de maior interesse para os melhoristas por possuírem genes de resistência a vários patógenos (Maluf, 1985).

A planta de tomate é perene, de porte arbustivo, sendo cultivada como cultura de ciclo anual. Pode se desenvolver de forma rasteira, semi-ereta ou ereta (Alvarenga et al., 2004). A arquitetura da planta pode ser caracterizada por dois tipos de hábito de crescimento: a) crescimento indeterminado, que é predominante na maioria das cultivares para a produção de frutos para mesa e em cujas lavouras as plantas são tutoradas e podadas; b) crescimento determinado, que é característica comum às cultivares selecionadas para o cultivo rasteiro destinado à produção de frutos para a agroindústria (Filgueira, 2005).

Segundo Silva & Giordano (2000) as flores das plantas de tomate são pequenas e amarelas com formato de cachos ou racimo e são hermafroditas, o que permite aumentar a sua taxa de autopolinização. Possui inflorescência do tipo cimeira de formas simples, bifurcadas ou ramificadas. Os frutos do tomateiro são do tipo baga, com diferentes formatos e tamanhos, constituindo-se de película, polpa, placenta e sementes. É dividido em lóculos onde as sementes encontram-se imersas na mucilagem placentária e, dependendo da cultivar, os frutos podem ser biloculares, triloculares, tetraloculares ou pluriloculares (Melo, 1989).

2.1.3 Situação econômica

Dentre as hortaliças, o tomate é a segunda mais importante, não apenas em produção, mas também em valor sócio-econômico. A cultura é formada por duas cadeias

produtivas, caracterizadas pelos segmentos de mesa, destinado ao consumo *in natura*, e de indústria, destinado ao processamento. Cada cadeia produtiva possui características intrínsecas no que diz respeito à produção, beneficiamento, processamento e comercialização, desde as cultivares utilizadas até as formas de cultivo e consumo final (Kross et al., 2001).

A produção mundial de tomate em 2009 alcançou 130.998.126 toneladas, sendo a China, o maior produtor com 45.365.543, seguida dos Estados Unidos, Índia, Turquia e Egito (FAO, 2009). O Brasil é o oitavo produtor mundial com 4.310.477 toneladas produzidas, sendo a região Sudeste a maior produtora com 1.552.373 toneladas, onde São Paulo é o maior produtor de tomate da região e o segundo maior do Brasil, com 730.385 toneladas. O estado de Goiás é o maior produtor do Brasil, com 1.427.144 toneladas. O estado do Rio de Janeiro é o sexto produtor com 216.297 toneladas. Embora, a produtividade média do estado ($77,30 \text{ t ha}^{-1}$) esteja acima da nacional ($63,68 \text{ t ha}^{-1}$), está abaixo do estado de Goiás que possui maior produtividade média $78,80 \text{ t ha}^{-1}$ (IBGE, 2009).

O aumento do consumo de tomate está relacionado, entre diversos fatores, à consolidação de redes de “*fast food*”, que utilizam essa hortaliça nas formas processada e fresca e na crescente demanda por alimentos industrializados, principalmente na forma de molhos pré-preparados ou prontos para consumo, como os “*catchups*” (Hortifruti Brasil, 2007).

2.1.4 Exigências climáticas

A cultura se adapta melhor ao cultivo em clima tropical de altitude, como o das regiões serranas ou de planalto, porém se desenvolve também em regiões de clima tropical ou temperado, seco e com luminosidade alta (Filgueira, 2005).

O tomateiro é exigente em termoperiodicidade diária, isto é, requer temperaturas diurnas amenas e noturnas menores, com uma diferença entre elas de $6-8^{\circ}\text{C}$ (Filgueira, 2005). A temperatura ideal para a maioria das variedades situa-se entre 21 e 24°C . Temperaturas abaixo de 10°C e acima de 38°C são prejudiciais à cultura (Naika et al., 2006). Segundo Filgueira (2005), temperaturas diurnas ou noturnas excessivas é fator limitante na tomaticultura, afetando o florescimento, frutificação e pegamento dos frutos. Já as temperaturas diurnas amenas favorecem a polinização e produtividade e baixas temperaturas retardam a germinação, emergência da plântula e crescimento vegetativo. A cultura do tomate se comporta como indiferente ao fotoperíodo. Além da temperatura, existem outros fatores climáticos que influenciam no comportamento da cultura, sendo o excesso de pluviosidade o mais prejudicial. A alta umidade do ar favorece a ocorrência de doenças fúngicas e bacterianas.

2.2 Mancha-de-estenfílio

2.2.1 Importância da doença

A cultura do tomate é atacada por doenças de diversas etiologias que podem causar sérios danos à cultura (Lopes et al., 2003). Dentre estas, destaca-se a mancha-de-estenfílio, que causa danos à cultura em qualquer estágio de desenvolvimento, podendo provocar, sobre condições ideais de temperatura e umidade, a destruição das folhas (Mello 1995; Oliveira, 1997). Os sintomas podem ser observados nos cotilédones de plântulas na fase de sementeira, e também durante os demais estágios de desenvolvimento da cultura, sendo mais intensos no início da colheita (Azevedo, 2003).

É uma doença cuja importância, estava sendo limitada pelo uso de cultivares resistentes e aplicações periódicas de fungicidas para controle de doenças foliares (Kurozawa & Pavan, 1997; Lopes et al., 2005; Mehta, 1998). No entanto, relatos de epidemias e perdas relevantes têm sido feitos por produtores de diferentes regiões e pesquisadores. O “ressurgimento” da mancha-de-estenfilio pode estar associado à suscetibilidade das cultivares que produzem frutos com características “longa-vida”, sendo que vários desses híbridos ocupam grandes áreas de plantio em diferentes regiões produtoras do País (Reis & Boiteux, 2006). Estes autores fizeram um levantamento com 50 cultivares de tomate cuja informação sobre genes/fatores de resistência encontrava-se disponível em catálogos de empresas de sementes atuando no Brasil. Os resultados indicam que apenas 16 (32%) eram identificadas como resistentes à doença. Dentre estas cultivares identificadas como resistentes estão Jumbo e Santa Clara Miss Brasil e dentre as identificadas como suscetíveis estão os híbridos Débora Plus, Carmem F1 e Dominador. O ressurgimento desta doença de importância econômica para o tomateiro pode resultar em mais perdas para os produtores devido à redução na produtividade ou pelo incremento nos custos devido ao aumento na quantidade de fungicidas utilizados na cultura e à necessidade de iniciar as pulverizações mais cedo. Além disso, esta doença pode representar mais uma dificuldade para cultivo de tomate em sistemas agroecológicos (Reis & Boiteux, 2006) tendo em vista a restrição ao uso de defensivos químicos.

Outros fatores que, provavelmente, contribuem para a ocorrência de epidemias podem estar o desconhecimento do produtor quanto à importância da doença, a diagnose incorreta e falhas no controle químico, já que os sintomas são inicialmente confundidos com aqueles causados por outras doenças, como mancha-bacteriana (*Xanthomonas* spp.) e pinta-bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), e conseqüentemente, adoção de medidas de controle inadequadas (Reis & Boiteux, 2006).

2.2.2 Sintomas e epidemiologia

O gênero *Stemphylium* é classificado como pertencente ao reino *Fungi*; filo: *Ascomycota*; classe: *Dothideomycetes*, sub-classe: *Pleosporomycetidae*; ordem: *Pleosporales* e família *Pleosporaceae* (Kirk et al., 2008) e seu teleomorfo é o ascomiceto *Pleospora* (Anonymous, 2004). Diferentes espécies do gênero *Stemphylium* têm sido encontradas causando doença na cultura do tomate, entre elas estão *Stemphylium solani* (Weber, 1930), *S. lycopersici* (Ellis & Gibson, 1975); *S. floridanum* (Hannon & Weber, 1955) e *S. botryosum* (Rotem et al., 1966). Entretanto, a maioria dos relatos informa as espécies *S. solani* e *S. lycopersici* como o agente etiológico predominante, inclusive no Brasil (Reis & Boiteux, 2006). Segundo Santos (1995), estas duas espécies são mais adaptadas a temperaturas elevadas (maior que 25°C) e talvez por isso prevaleça no Brasil.

A mancha-de-estenfilio foi relatada pela primeira vez nos Estados Unidos em 1924 e no Brasil em 1945 (Kurosawa & Pavan, 1997). *S. solani* foi relatado primeiramente na cultura do algodão (*Gossypium hirsutum*) e depois em tomate (*S. lycopersicum*). Epidemias causadas por *S. solani* em algodão foram relatadas no estado do Paraná em 1994 e 1995 quando causou perdas de até 100% na produtividade em algumas áreas comerciais (Mehta, 1998). A espécie *S. solani* é, provavelmente, a mais comum e a sua predominância sobre *S. lycopersici* nas lavouras de tomate, deve-se, provavelmente, ao fato desta espécie ser mais polífaga, ou seja, ser capaz de infectar um maior número de espécies hospedeiras (Mendes et al., 1998).

A distinção das espécies *S. solani* e *S. lycopersici* é feita basicamente pelas diferenças morfológicas. *S. solani* produz conidióforos de cor clara a meio escura com até

200 µm de comprimento e 4-7 µm de largura e 8-10 µm de diâmetro; conídios pontiagudos com 3-6 septos transversais e alguns septos longitudinais e, em sua maioria constricto no meio dos septos, de coloração clara a meio dourada, liso ou levemente verrugoso, medindo de 35-55 x 18-28 µm (Figura 2). *S. lycopersici* produz conidióforos de cor clara a meio escura com até 140 µm de comprimento e 6 - 7 µm de largura, com 8-10 µ de diâmetro; conídios pontiagudos cônico até o ápice com 1-8 septos transversais e alguns longitudinais, geralmente constricto nos três maiores septos transversais, coloração clara a meio escura, liso ou levemente verrugoso, medindo de 50-74 x 16-23 µm (Ellis, 1971).

Características morfológicas e de desenvolvimento tais como tamanho e formato do conídio, conidióforos e ascósporos e o tamanho e tempo de maturação da pseudotecia são úteis para diagnosticar variações nas espécies (Camara et al., 2002).

Rahman et al. (2010) avaliaram as características morfológicas de *S. botryosum* e verificaram que os conídios apresentaram coloração marrom e a maioria deles eram retangulares e arredondados na ponta, com septos transversais e longitudinais, constrição no meio do conídio, comprimento e largura igual a 10,48x4,78 µm, respectivamente, variando de 8-15 e 3-8 µm.

Mehta (1998) baseando-se na morfologia das colônias de *S. solani* verificou variabilidade nas características morfológicas das colônias entre isolados. As colônias de isolados de algodão apresentavam crescimento lento quando cultivadas em meio de cultura BDA, atingindo 24-66 mm de diâmetro 10 dias após a incubação, eram de coloração marrom escuro com setores e centro aveludado, micélio liso e alguns isolados produziam um pigmento amarelo no meio que se torna vermelho escuro com o tempo. Já as colônias de isolados de tomate eram lisas, circulares, sem a presença de setores e micélio aéreo de coloração branco para rosa. Em relação aos conídios, eram ligeiramente curtos e mais estreitos, e apresentavam paredes lisas ao contrário do isolado de tomate que apresentavam parede verrugosa.

Segundo Reis & Boiteux (2006a) a maioria das espécies hospedeiras de *S. solani* pertence à família Solanaceae, estando entre elas o tomate (*S. lycopersicum*), o jiló (*S. gilo*), o pimentão (*Capsicum annum* L.), as pimentas (*Capsicum* spp.), a berinjela (*S. melongena*), e a lobeira ou fruta-de-lobo (*S. lycocarpum*). Segundo Boiteux et al. (1993) o *S. lycocarpum* é uma planta nativa perene muito comum no cerrado brasileiro e que pode ter um importante papel na sobrevivência de *S. solani* por manter o patógeno viável de uma estação para outra. Além destes hospedeiros Reis & Boiteux (2006a) relatam alguns acessos suscetíveis que ainda não haviam sido relatados como hospedeiros de *S. solani*, entre eles estão: a pimenta “biquinho” (*C. chinense*), joá-de-capote (*Nicandra physaloides*), joá-bravo (*Solanum palinacanthum*), tomate-de-árvore (*Cyfoandra betacea*) e jurubeba doce (*S. paniculatum*). Por outro lado *S. lycopersici* possui uma gama de espécies hospedeiras mais restritas, como o tomateiro e mamão (*Carica papaya*) (Mendes et al., 1998).

Mehta (1998) realizou testes de inoculação com isolados de *Stemphylium* provenientes do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. ou *G. barbadense* L.), nas culturas do algodão, tomate (*S. lycopersicum*), batata (*S. tuberosum*) e tremoço azul (*Lupinus angustifolius* L.). Estes autores verificaram que os isolados de *S. solani* coletado do algodão foram altamente agressivos quando inoculados em algodão, tomate, batata e tremoço azul. Enquanto o isolado de *S. solani* coletado do tomate foi altamente agressivo em tomate e batata, mas pouco agressivo no algodoeiro.

Mehta & Brogin (2000) verificaram que isolados de *S. solani* do algodoeiro produziam uma fitotoxina capaz de produzir sintomas similares ao induzido pelo patógeno na planta. Os mesmos autores relataram que cultivares altamente suscetíveis ao patógeno

também eram altamente sensíveis à fitotoxina e que cultivares resistentes eram insensíveis, ou moderadamente sensíveis, à fitotoxina.

As espécies *S. solani* e *S. lycopersici* podem sobreviver em restos culturais, plantas voluntárias e hospedeiras alternativas. Segundo Zambolim et al. (2000) as espécies de *Stemphylium* spp. são saprófitas e capazes de crescer e esporular em folhas mortas deixadas sobre solos úmidos. A disseminação do patógeno a longa distância ocorre através de mudas oriundas de sementeiras contaminadas e sementes infectadas. No campo de produção, o vento é o principal agente de disseminação dos conídios. Zheng et al. (2010) relataram que *Stemphylium solani*, agente causal da mancha-de-estenfílio em alho, pode sobreviver em restos culturais de alho por longos períodos, sendo fonte primária de inóculo para a próxima estação de cultivo.

A maioria das pesquisas sobre a infecção de espécies de *Stemphylium* spp. em diferentes hospedeiros confirmam que a temperatura e a umidade são os fatores ambientais mais importantes. Umidade relativa ou duração do período de molhamento foliar tem sido considerados fatores determinantes no desenvolvimento de *S. vesicarium* em vários hospedeiros (Aveling & Naude, 1992; Basallote et al., 1993; Suheri & Price, 2000; Llorente and Montesinos, 2002). A acumulação de um curto período de umidade por várias noites seguidas é necessária para esporulação de *Alternaria porri* f.sp. *solani*, *Stemphylium botryosum* f.sp. *lycopersici* e *Alternaria dauci* (Strandberg, 1997). A temperatura afeta a germinação de conídios e o tempo necessário para germinação e alongamento do tubo germinativo (Agrios, 2005). A germinação do conídio ocorre rapidamente na presença de água livre sobre a superfície da folha e sob temperaturas entre 24 e 27°C. Os sintomas surgem dentro de três a cinco dias após a incubação e depois de dois a três dias a nova lesão pode produzir conídios (Zambolim et al., 2000).

A temperatura ótima para o desenvolvimento da doença está entre 25 e 28°C e a umidade relativa maior que 80% (Zambolim et al., 2000). Paulus & Pound (1995) estudaram, em condições controladas, o efeito da temperatura do ar na iniciação e desenvolvimento de *S. solani* em tomate, e verificaram que o patógeno apresentava máximo crescimento numa faixa de 24-26°C. Além disso, observaram que esporulação abundante desse patógeno ocorreu na faixa de 14-26°C, com umidade relativa de 100% durante 24 horas. Segundo Kranz (1977) a temperatura de 26°C e três horas de molhamento foliar é o mínimo para que ocorra a penetração de *S. solani*. De acordo com Erskine & Sarker (1997) a temperatura tem um importante papel no desenvolvimento de *S. botryosum* em lentilha. A predominância de temperaturas maiores que 25°C e duração do período de molhamento maior que 24 horas favorece o aparecimento, desenvolvimento e disseminação da mancha-de-estenfílio no sudeste da Ásia. A luz afeta vários processos do desenvolvimento da doença, incluindo esporulação e germinação do patógeno e severidade da doença. No entanto, não é um fator tão importante como a temperatura ou umidade (Agrios, 2005).

O processo de infecção de tomateiro por *S. solani* foi estudado por meio de técnicas histológicas e de microscopia eletrônica de varredura (Bentes & Matsuoka, 2005). Estes autores verificaram que os conídios germinaram após seis horas, originando vários tubos germinativos, dos quais somente um ou, casualmente, dois penetraram no hospedeiro. O tubo germinativo penetrou principalmente via estômatos 12 horas após a inoculação. Após o processo de penetração, a hifa se difundiu, originando uma vesícula de formato globoso ou irregular na cavidade subestomática, que se ramificou e originou hifas secundárias que colonizaram o mesofilo do hospedeiro às 24 horas após a inoculação. Depois de 36 horas da inoculação, foram observadas na cultivar suscetível 'Moneymaker' lesões macroscópicas que se desenvolveram para sintomas típicos da doença e evoluíram para murcha e queda das folhas. Além disso, foi verificada a degradação do conteúdo celular e colapso das células do

mesófilo, na presença de hifas intercelulares, e em células distantes das hifas do patógeno, demonstrando que a estratégia de infecção do fungo é do tipo necrotrófica. Em relação a cultivar resistente 'Motelle', observou-se o colapso de algumas células, originando pequenas lesões macroscópicas 48 horas após a inoculação. Estas lesões não cresceram, permitindo assim o desenvolvimento normal do hospedeiro. A colonização dos tecidos ocorreu tanto de forma inter como intracelular, nos parênquimas do mesófilo, tanto na cultivar resistente como na suscetível (Bentes & Matsuoka, 2005).

As espécies de *Stemphylium* spp. são capazes de penetrar no hospedeiro diretamente por meio da epiderme ou indiretamente, através dos estômatos, após a formação do apressório (Aveling & Snyman, 1993; Suheri & Price, 2000), sendo este o modo de penetração mais comum (Borges et al., 1976; Cowling et al., 1982; Suheri & Price, 2000). Penetração através dos estômatos é afetada pela resistência do hospedeiro, mas é governada por fatores ambientais como registrado para *S. botryosum* (Cowling & Gilchrist, 1982).

Os sintomas da mancha-de-estenfílio ficam limitados geralmente às folhas (Jones, 1991) e de acordo com Kurosawa & Pavan (1997) e Lopes et al. (2005) afeta principalmente as folhas mais novas de plantas adultas. Entretanto em condições favoráveis, podem ocorrer algumas lesões nos pecíolos e pedúnculos florais (Jones, 1991). Os sintomas mais comuns da doença é a formação de lesões foliares pequenas, marrom-escuras, de formato irregular (Figura 1). Inicialmente as lesões são pequenas, encharcadas e visíveis na parte de baixo das folhas, podendo ser confundidas com as manchas provocadas por outras doenças tais, como a pinta-preta, mancha alva (*Corynespora cassiicola*), pinta-bacteriana ou mancha-bacteriana. À medida que as manchas aumentam de tamanho, podem coalescer e a sua parte central se desprender do restante do tecido foliar, conferindo um aspecto rasgado ou furado na região da lesão. Além disso, as folhas atacadas podem ficar amarelas, necrosadas e se desprender da planta. Os frutos não são atacados, porém sob condições favoráveis à ocorrência da doença podem surgir pequenas lesões nos tecidos jovens do caule e pedúnculos das flores e frutos (Jones, 1991; Lopes et al., 2005).



Figura 1: Sintomas de mancha-de-estenfílio causada por *Stemphylium solani* em folhas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*).



Figura 2: Conídios de *Spemphylium solani* coletado em tomate (*Solanum lycopersicum*) (A); conídio com vários tubos germinativos (B); conídio com um tubo germinativo (C).

2.4 Estratégias de Controle da Mancha-de-estenfílio

2.4.1 Resistência genética

Visando altas produtividades, melhor qualidade de frutos e uniformidade intenso trabalho de melhoramento foi realizado que resultou nas atuais cultivares e híbridos. Este processo, porém resultou em “erosão gênica” (Warnock, 1990), ou seja, perda de genes que conferem rusticidade e resistência. O tomateiro está hoje sujeito ao ataque de inúmeras pragas e doenças sendo suscetível a mais de 200 doenças de diversas etiologias (Agrios, 2005; Taylor, 1986).

A mancha-de-estenfílio pode ser uma das mais severas doenças do tomateiro quando se plantam cultivares suscetíveis. Os prejuízos devido à doença são decorrentes da redução da área foliar e do potencial produtivo, especialmente da porção apical das plantas (Kurosawa & Mussi, 1995). Diferentes espécies do gênero *Solanum lycopersicum* são utilizadas em programas de melhoramento genético do tomateiro, visando à incorporação de genes que conferem resistência a pragas e doenças (Giordano et al., 2003). A utilização de cultivares resistentes é a medida de controle mais eficiente contra os patógenos em geral, incluindo *Spemphylium* spp. (Mizubuti & Brommonshenkel, 1996).

De acordo com Behare et al. (1991) a resistência de plantas a *Spemphylium* é quantitativa determinada por um único gene dominante, *Sm*, descoberto há mais de seis décadas e até hoje utilizado. A característica monogênica e dominante desse gene facilita o desenvolvimento de híbridos F₁ com resistência à doença. Genótipos selvagens de tomate resistentes a mancha-de-estenfílio o são, provavelmente, pela presença do gene *Sm* ou alguma variante alélica deste (Giordano et al., 2003). Da mesma forma, a resistência a *Spemphylium* spp. das cultivares melhoradas é conferida pelo gene localizado no mesmo cromossomo em que estão situados os genes I e I-2 que confere resistência a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Dennet, 1950). Por este motivo, frequentemente, variedades resistentes a *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. são também resistentes a *Spemphylium*, e segundo Laterrot (2000), pode ser uma das causas da pouca importância dada a este patógeno.

O relato de resistência a mancha-de-estenfílio foi feito por Andrus et al. (1942) em plantas de frutos vermelhos de espécies de *L. pimpinellifolium* e a sua inserção em cultivares comerciais foi feita na década de 1950 (Scott, 1999). Desde então, o gene *Sm* tem sido utilizado e incorporado em genótipos de tomate sem que tenha ocorrido relato de quebra desta resistência. A durabilidade do gene *Sm* pode estar sendo favorecida pela aplicação de fungicidas recomendados para outras doenças do tomateiro, que podem também controlar as

potenciais variantes de virulência das espécies de *Stemphylium* (Kurozawa & Mussi, 1995). No entanto, a busca de novas fontes de resistência à mancha-de-estenfilio em *S. lycopersicum* a diferentes espécies de *Stemphylium* é de extremo interesse para os programas de melhoramento genético, especialmente no caso de superação da resistência conferida pelo gene *Sm* por novas raças destes patógenos (Kurozawa & Mussi, 1995; Scott, 1999).

A resistência de cultivares de tomate pode também estar relacionada ao alcaloide tomatina, segundo (Filgueira, 2005). A tomatina se encontra em elevada concentração nas folhas e nos frutos verdes de tomate e tem a capacidade de se degradar em componentes inertes nos frutos maduros. Sandrock & VanEtten (1998) avaliaram a sensibilidade de vários patógenos, entre eles *Stemphylium solani*, à α -tomatina e seus derivados e a habilidade destes em degradar este alcalóide. Eles verificaram que *S. solani* foi altamente sensível à α -tomatina. Segundo (Diener, 1955) citado por Sandrock & VanEtten (1998), *S. solani* é um patógeno de folha, e as folhas podem apresentar níveis maiores que 1 μ M de α -tomatina. No entanto, como este patógeno cresce dentro do espaço intercelular e na lamela média da folha, a hifa pode não entrar em contato com este alcalóide, estocado no vacúolo (Roddick, 1976) citado por Sandrock & VanEtten (1998).

Kurozawa & Pavan (1997) citam como resistentes as cultivares Santa Clara, IPA 5, Ângela, Agrocica 33 e Condor entre outras. Paula & Oliveira (2001) testaram os níveis de resistência de diferentes genótipos de tomate a *Stemphylium solani* em condições de campo, sob infecção natural, e destacaram dois genótipos Ohio 4013 e o híbrido F1 resultante do cruzamento de Havaii X Monense.

Reis & Boiteux (2006b) avaliaram a resistência de diferentes acessos de *S. lycopersicum* a *S. solani* e *S. lycopersici* e verificaram que dos acessos avaliados, 18 comportaram-se como suscetíveis, três como intermediários e 12 como resistentes sendo estes acessos resistentes a ambas as espécies.

2.4.2 Controle químico

2.4.2.1 Fungicidas

O controle químico é a principal medida de controle utilizada pelos produtores para reduzir as perdas causadas por fungos que incidem na parte aérea da cultura do tomateiro (Mello & Azevedo, 2000). As substâncias usadas como fungicidas podem apresentar diferentes mecanismos de ação desde aquelas que reduzem o crescimento micelial, e, ou, a esporulação, chamadas de substâncias “fungistáticas” e “antiesporulantes” ou “genestáticas” (Reis et al., 2007), ou que inibem a germinação dos esporos. O uso de fungicidas tem sido eficaz na redução das perdas econômicas decorrentes do ataque de *Stemphylium* spp. em diversas culturas.

Segundo Zambolim & Chaves (1983) existem diferentes critérios para classificação dos fungicidas e, geralmente, estes critérios são baseados na natureza química e modo de ação do produto. Quanto ao modo de ação podem ser classificados como protetores ou sistêmicos.

Os fungicidas protetores são absorvidos pela célula do fungo, geralmente através do tubo germinativo, enquanto os de contato penetram diretamente na célula ou esporo, independente de sua germinação (Reis et al., 2007). Os fungicidas a base de cobre, como o oxiclreto de cobre, são absorvidos e acumulados nas células dos fungos. Nestas células são formados complexos com enzimas que possuem grupos sulfidríla, hidroxila, amino ou carboxila que podem levar à inativação ou rompimento das células sensíveis.

Os fungicidas do grupo dos triazóis, como o tebuconazole, age inibindo a síntese de ergosterol, principal lipídio da membrana plasmática dos fungos. Estes fungicidas atuam na formação e na seletividade da membrana plasmática (Reis et al., 2007) e, conseqüentemente, no desenvolvimento do micélio do fungo (Kimati, 1995). Segundo Forcelini (1994) este fungicida apresenta efeito protetor devido a ação tóxica exercida sobre a germinação dos esporos e formação do tubo germinativo. A ação curativa ocorre devido à inibição do crescimento micelial no interior dos tecidos da planta pela presença do fungicida.

Vários fungicidas como clorotalonil, mancozebe, procimidona, tebuconazole e iprodione são relatados como eficientes no controle da mancha-de-estenfílio em várias espécies de hospedeiros (Basallote-Ureba et al., 1999; Menzies et al., 1992; Meyer et al., 2000). Kurosawa & Pavan (1997) recomendam a utilização de fungicidas protetores, tais como cúpricos, mancozebe e clorotalonil para o controle da doença.

De acordo com Basallote-Ureba et al. (1998) os fungicidas tebuconazole e procimidona são eficientes no controle da mancha-de-estenfílio em alho. Zheng et al. (2010) avaliando o efeito *in vivo* de fungicidas no controle da mancha-de-estenfílio em alho observaram que os fungicidas flusilazol (50 g.ha⁻¹) e mancozebe (350 g.ha⁻¹) foram eficientes na redução da severidade da doença.

Segundo Tofoli et al. (2003), o conhecimento do modo de ação e do efeito de um determinado fungicida sobre as diferentes fases do ciclo de vida do patógeno é importante para a definição das estratégias de uso do produto. Estes mesmos autores realizaram testes *in vitro* visando avaliar a ação inibitória de 16 fungicidas sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani* e verificaram que, em geral, os fungicidas apresentaram potenciais de inibição crescente em função do aumento da concentração do ingrediente ativo. Neste trabalho, os autores observaram que os fungicidas tebuconazole, difenoconazole, fluazinam, iprodione, procloraz, procimidona, pirimetanil, e metconazol apresentaram maior inibição do crescimento micelial, com redução de cerca de 70 a 80% em concentrações acima de 1 µg.mL⁻¹ e, inibição total à concentração de 100 µg.mL⁻¹ para os cinco isolados de *A. solani* testados. Já os produtos mancozebe e clorotalonil proporcionaram menores níveis de inibição, porém sempre superiores ao da testemunha. Os fungicidas cresoxim metílico, azoxistrobina, piraclostrobina + metiram, fenamidona e famoxadona + mancozebe por sua vez resultaram em efeito inibitório intermediário do crescimento micelial e inibição completa da germinação dos conídios a partir da concentração de 1 µg.mL⁻¹.

2.4.2.2 Produtos alternativos

O Brasil é considerado o maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Em 2009, foi utilizado nas lavouras aproximadamente 800 mil toneladas de produtos químicos (MAPA, 2009). Com o propósito de diminuir os efeitos negativos da utilização de agrotóxicos e aumentar a produção e a qualidade dos alimentos tem-se buscado novas medidas de proteção de plantas contra doenças (Bettiol, 1997). São considerados alternativos todos os produtos químicos, biológicos, orgânicos ou naturais que possuem características de baixa toxicidade, menor custo para aquisição e emprego, baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, simplicidade quanto ao manejo e aplicação, eficiência no combate aos insetos e microorganismos nocivos, alta disponibilidade para aquisição e não favorecer a seleção de espécimes da praga ou patógeno resistentes (Penteado, 1998).

Entre os produtos que podem atender a estes critérios estão os extratos brutos ou refinados de plantas bioativas. Compostos secundários bioativos, presentes no extrato bruto

ou óleo essencial de plantas medicinais pode constituir, juntamente com a indução de resistência, em mais uma forma de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (Schwan-Estrada et al., 2000). Segundo Domingues et al. (2009) diversas espécies são potencialmente fontes de substâncias com ação fungicida e seu estudo poderá contribuir para a redução dos problemas atualmente existentes no controle químico de doenças fúngicas na agricultura. De acordo com Fernandes et al. (2008) a utilização de produtos biológicos ou naturais conhecidos como defensivos alternativos, podem ser divididos em fertiprotetores e protetores. Os fertiprotetores são produtos que fornecem nutrientes às plantas, influenciando positivamente no processo metabólico das mesmas, além de contribuírem para o controle de parasitas. Estes incluem biofertilizantes líquidos, caldas (sulfocálcica, viçosa e bordalesa), urina de vaca, leite e outros. Os protetores são produtos que agem diretamente no controle de fitoparasitas, como os agentes de biocontrole, os extratos vegetais, os feromônios e outros.

A calda bordalesa foi o primeiro fungicida desenvolvido pelo homem. Sua descoberta foi feita na França em 1882 por Millardet em observações no patossistema videira x *Plasmopora viticola*. A ação da calda bordalesa é devido a compostos provenientes da reação entre sulfato de cobre (CuSO_4) e cal virgem (CaO) (Reis et al., 2007). Além da ação fungicida, a calda bordalesa tem também atividade bactericida e bacteriostática e é amplamente empregada em culturas como batata, tomate e pimentão (Schwengber et al., 2007; Pedrini, 2000), café (*Coffea* sp.), cebola (*Allium cepa*), alho (*Allium sativum*), beterraba (*Beta vulgaris*), alface (*Lactuca sativa*), couve (*Brassica oleracea*) e repolho (*Brassica oleracea*) (Pedrini, 2000). Sua utilização é permitida na agricultura orgânica por ser o sulfato de cobre um produto pouco tóxico, e por melhorar o equilíbrio nutricional das plantas (Pedrini, 2000).

A calda viçosa é uma suspensão coloidal, composta por elementos químicos formando complexos com a cal hidratada. Este fungicida de preparo caseiro foi desenvolvido pelo Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de viçosa, em 1975, pelo professor João da Cruz Filho, para o controle da ferrugem do cafeeiro causada por *Hemileia vastatrix*. Esta calda é composta pela mistura de sulfato de cobre, sulfato de zinco, sulfato de magnésio, ácido bórico, cloreto de potássio e cal hidratada (Reis et al., 2007). Após o uso inicial na cultura do café, novas pesquisas foram realizadas para a sua utilização em outras culturas, como tomate (Zambolim et al., 1990), feijão (*Phaseolus vulgaris*) (Ferreira, 1998) e algodão (*Gossypium hirsutum*) (Aquino et al., 2008), mostrando-se eficiente para o controle de doenças da parte aérea. Aquino et al. (2008) relatam que o uso da calda viçosa é interessante, pois além de controlar doenças é fonte de micronutrientes como Boro, Zinco e Cobre. Gonçalves et al. (2007) quando avaliaram a eficiência da calda bordalesa e calda viçosa e de um composto fertiprotetor no controle de *Phytophthora infestans* em batata, observaram que as caldas bordalesa e viçosa reduziram a severidade da requeima.

A calda sulfocálcica é um produto originário da reação entre o cálcio e o enxofre quando dissolvidos em água e submetidos à fervura (Polito, 2000). Inicialmente era usada para banhar animais contra a sarna, e durante a segunda metade do século XIX, na Califórnia, foi constatada a sua viabilidade como inseticida, passando ao domínio popular em 1902 (Schwengber et al., 2007). A calda sulfocálcica, cujo princípio ativo é o polissulfeto de cálcio, é um produto sulfurado, inorgânico que contém propriedade fungicida, acaricida e inseticida (Abreu, 1998; Azevedo, 2003; Reis et al., 2007). De acordo com (Polito, 2000) estes polissulfetos, quando aplicados sobre as plantas, reagem com a água e o gás carbônico, gerando gás sulfídrico e enxofre coloidal. Estes compostos são os

responsáveis pela ação de controle e repelência, principalmente sobre insetos, em suas diferentes fases de desenvolvimento, possuindo ainda efeito fungicida secundário.

A calda sulfocálcica pode ser utilizada em diversas culturas no controle de doenças e pragas e quando comparada a outros defensivos, além de apresentar menor custo, possui as vantagens de ser menos tóxica ao homem e menos poluente ao ambiente (Reis et al., 2007). Segundo Negri (2007) esta calda é considerada um defensivo alternativo e tem o seu uso permitido na agricultura orgânica pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Esta calda pode, ainda, fornecer nutrientes às plantas como cálcio e enxofre (possui 19 % de enxofre e 8 % de cálcio). No entanto, essa calda pode ser fitotóxica a algumas culturas, principalmente no verão, motivo pelo qual é recomendada prioritariamente para o controle de pragas em fruteiras no inverno (Guerra, 1985).

A diversidade de substâncias ativas presente em plantas medicinais tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas envolvendo a utilização de extratos vegetais, com o objetivo de explorar suas atividades fungitóxicas (Franzener et al., 2003). Entretanto, o controle de doenças de plantas através do uso de extratos vegetais ainda é pouco comum, preferindo-se a utilização de caldas, biofertilizantes e extratos de compostos orgânicos (Neuerburg & Padel, 1992; Souza, 1998). Tem sido observado em ensaios *in vitro* a sensibilidade de diversos patógenos a extratos vegetais, como *Aspergillus flavus* a extratos de alho e canela (Viegas et al., 2005), *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* sp. e *Curvularia* sp. a extrato de alho (Venturoso et al., 2011; Ribeiro & Bedendo, 1999; Vieira et al., 2011), *Alternaria solani* a extrato de alho (Domingues et al., 2009; Pedroso, et al., 2009) e canela (Abreu, 2006), e de *Colletotrichum acutatum* a extratos de fumo, arruda (*Zingiber officinalis*) e alho (Almeida et al., 2009). Na literatura há, ainda, relatos de ação fungicida de extratos vegetais de alho (*Allium sativum*), pimenta (*Capsicum* spp.), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e fumo (*Nicotiana tabacum*).

O extrato de fumo contém alcalóides, flavonóides e taninos que tem ação fungitóxica (Taiga & Friday, 2009). Estes mesmos autores relataram que o extrato de *N. tabacum* (fumo) apresentou maior capacidade fungitóxica contra os fungos *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium oxalicum*, que os extratos de *Azadirachta indica* (neem) e *Aloe vera*, que possuem as mesmas substâncias presentes no extrato de fumo, exceto taninos. A presença do composto adicional, tanino, pode ser responsável pela maior atividade fungitóxica do extrato de fumo.

O óleo essencial extraído da casca de canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que o das folhas apresenta composição diferente, sendo fonte de eugenol (Koketsu et al., 1997). Eugenol inibiu o crescimento de *Botryosphaeria rhodina* e de duas espécies de *Alternaria* (Faria et al., 2006) e o extrato metanólico de canela mostrou-se eficiente na inibição *in vitro* do crescimento de *Cladosporium sphaerospermum* e *Colletotrichum lindemuthianum* (Dias et al., 2010).

Desde a década de 80, Adetumbi & Lau (1983) já enfatizavam que a planta de alho tinha um papel importante no controle ecológico de microorganismos patogênicos e que isto deveria ser explorado no futuro. A atividade antifúngica do extrato de alho é uma das mais estudadas entre os extratos vegetais. A planta de alho possui duas substâncias, a aliinase e a aliina, armazenadas separadamente, que quando complexadas formam a alicina, substância tóxica que inativa os microorganismos (Talamini & Stadnik, 2004). Baptista et al. (2007) testaram o efeito de produtos alternativos, como de extratos vegetais 2% e 5% (p/v), de neem (*A. indica*), alho + pimenta, e primavera (*Bougainvillea spectabilis*) e do biofertilizante 0,5 e 1% (v/v) para o controle da pinta preta em tomate em casa de vegetação. Como testemunhas foram utilizadas a pulverização com calda bordalesa e com água. Constataram que a calda bordalesa foi o produto mais eficiente no controle da doença,

seguido dos extratos mais diluídos de primavera e neem (2%) e do biofertilizante aeróbico 0,5%.

Menezes et al. (2009) avaliando a ação dos extratos vegetais de alho, alecrim (*Rosmarinus officinalis*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), carqueja (*Baccharis trimera*), e gengibre (*Zingiber officinalis*) e do fungicida mancozebe *in vivo* no controle de *A. solani* e na produtividade do tomateiro verificaram que os extratos de alho e gengibre podem ser uma opção para controle de pinta preta em cultivos orgânicos de tomate, já que as plantas apresentaram níveis de severidade e produtividade similares aos obtidos com o fungicida mancozebe.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em condições de laboratório, de casa-de-vegetação e de campo no Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, no período de maio de 2010 a dezembro de 2011.

3.1. Caracterização de espécies de *Stemphylium* predominantes nas lavouras de tomate no Estado do Rio de Janeiro.

Para caracterização das espécies de *Stemphylium* predominantes nas lavouras de tomate do estado do Rio de Janeiro foram coletadas amostras em quatro municípios no período de maio de 2010 a maio de 2011. Em cada localidade foram coletadas folhas de tomate apresentando sintomas similares ao da mancha-de-estenfílio a partir das quais foram feitos os isolamentos (Tabela 1). Foram coletados 18 isolados de *Stemphylium* e destes, cinco foram submetidos ao teste de patogenicidade e após a confirmação de sua patogenicidade, utilizados nos ensaios.

Tabela 1: Isolados de *Stemphylium* spp., coletados no estado do Rio de Janeiro e utilizados nos ensaios.

Identificação	Origem	Cultivar	Época de isolamento
SENA 101	UFRRJ	ENAS 1136	Agosto/2010
SENA 102	UFRRJ	Carolina (Feltrin)	Maio/2010
SENA 202	Pesagro (UFRRJ)	Garrafinha rosa	Junho/2010
SENA 301	Paty do Alferes	Forty	Maio/2010
SENA 302	Paty do Alferes	Forty	Maio/2010

Para o isolamento, feito por método indireto, fragmentos dos tecidos foliares lesionados foram submetidos à assepsia com imersão em álcool 70% seguido de hipoclorito de sódio por dois minutos e por fim lavados em água esterilizada por dois minutos quando foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura AA (Ágar-água). As placas foram mantidas em BOD à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, até o crescimento do micélio. Em seguida, pedaços de micélio com o meio AA foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA que foram acondicionadas em BOD regulado para fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C (Kim et al., 2004) onde permaneceram até o crescimento das colônias e posterior esporulação. Após a verificação em microscópio e confirmação do patógeno, discos de micélio de cada um dos isolados foram repicados para tubos de ensaio inclinados contendo meio BDA. Em seguida, os diferentes isolados foram preservados em óleo mineral conforme (Figueiredo & Pimentel, 1975).

Para obtenção do inóculo dos respectivos isolados a serem testados, estes foram repicados para placas de Petri contendo o meio V8 (Mussi & Kurozawa, 1996) e em seguida incubados em BOD regulado para 25 °C e 12 h de fotoperíodo por duas semanas e, em seguida, em BOD a 15°C e 12 h de fotoperíodo por mais uma semana. Para preparo da suspensão de inóculo, foi feita a adição de 20 ml de água esterilizada às placas seguida de leve raspagem com pincel de cerdas macias para remoção dos conídios. Após filtragem em gaze (1x1 mm), a concentração da suspensão foi ajustada para 10⁴ conídios.ml⁻¹ com auxílio de hemacitômetro.

A patogenicidade dos isolados foi testada por meio de inoculações em mudas de tomate da cultivar Débora Plus caracterizada como suscetível à doença por Reis & Boiteux (2006). Para obtenção das mudas de tomate, sementes da referida cultivar foram semeadas em bandejas de polipropileno de 128 células, contendo substrato orgânico, produzido na Fazendinha Agroecológica (SIPA) constituído por vermicomposto, carvão vegetal e torta de mamona (Oliveira, 2011). Aos 30 dias após o semeio, as mudas foram transplantadas para copos plásticos contendo solo acrescido de esterco bovino. As inoculações foram realizadas 15 dias após o transplante das mudas por pulverização das suspensões dos respectivos isolados em folhas de quatro plantas por isolado, até o ponto de escorrimento. As mudas foram mantidas em câmara úmida por 24 h, proporcionada por sacos plásticos transparentes, e em seguida mantidas em condições de casa-de-vegetação até a constatação de sintomas. Após o surgimento dos sintomas procedeu-se o reisolamento em cultura pura e os isolados preservados em óleo mineral (Figueiredo & Pimentel, 1975).

A caracterização morfológica para identificação das espécies de *Stemphylium* foi feita de acordo com Ellis (1971), baseando-se no tamanho e cor dos conídios e quantidade de septos presentes nos conídios. Essa caracterização foi realizada no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Algodão, pelo pesquisador Dartanhã José Soares. A metodologia utilizada foi a definida por Simmons (1967). Os isolados foram cultivados em meio BCA (batata-cenoura-ágar) e incubados em BOD a temperatura de 25°C, por sete a 14 dias, com fotoperíodo de 8/16 (luz/escuro, respectivamente).

Para avaliar o comportamento dos cinco isolados quanto ao crescimento micelial, cultivou-se os isolados de *Stemphylium solani* em placas de Petri contendo meio de cultura V8 e incubados por 10 dias em BOD sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C. Em seguida, discos de micélio de (5 mm de diâmetro) dos cinco isolados foram retirados dos bordos das colônias e transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio V8. Logo após as repicagens, as placas foram acondicionadas em câmara tipo BOD, regulada para 12 horas de fotoperíodo e temperatura de 25° C durante 11 dias. As avaliações foram realizadas diariamente por meio da medição dos diâmetros (mm) das colônias em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento micelial a média das duas medidas.

A capacidade de produção de conídios dos cinco isolados foi avaliada em placas mantidas a 25° C por onze dias e a 15°C por nove dias, com fotoperíodo de 12 horas. Aos 20 dias do início da incubação mediram-se os diâmetros das colônias e adicionaram-se 5 mL de água esterilizada em cada placa. Para facilitar a liberação dos conídios, foram feitas leves raspagens na superfície do micélio com um pincel macio. A suspensão obtida foi filtrada em gaze e utilizada para contagem do número de conídios em hemacitômetro, com três leituras por repetição. Os dados médios das três leituras foram transformados em conídios por mm² de colônia.

Para avaliar o comportamento dos cinco isolados quanto à germinação dos conídios, alíquotas de 10 µL de suspensão contendo 2×10^4 conídios.ml⁻¹ foram depositadas em lâminas de vidro seguido do acréscimo de 10 µL de água esterilizada. Posteriormente, as lâminas foram colocadas dentro de uma caixa plástica tipo gerbox contendo papel de filtro umedecido com 20 mL de água destilada, as quais ficaram mantidas em câmara de crescimento tipo BOD por 24 horas a 25° C, em escuro contínuo. Após o período de 24 horas, foi feita a adição de 10µL de lactofenol sobre as gotas dos respectivos tratamentos. A avaliação da germinação dos conídios foi feita em microscópio óptico pela contagem dos 100 primeiros conídios encontrados em cada gota de suspensão. Foi considerado como germinado aqueles conídios que apresentavam tubos germinativos de tamanho igual ou superior ao comprimento do conídio analisado. Os dados foram expressos em porcentagem

de conídios germinados por parcela. Simultaneamente, foi feita a contagem do número de tubos germinativos emitidos por cada conídio germinado.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação dos produtos utilizando o programa estatístico SAEG (UFV, 1997).

3.2 Caracterização de cultivares comerciais plantadas no estado do Rio de Janeiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio.

O ensaio foi conduzido no período de Outubro a Novembro de 2011, no Setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada em Seropédica, Rio de Janeiro. Foram testados os principais híbridos plantados nos municípios produtores de tomate do Estado do Rio de Janeiro (Dominador, Serato, Forty, Lumi), os híbridos Carmem, Débora Plus, Jumbo, Sweet Grape e as variedades Santa Clara e Perinha Água Branca, quanto a resistência e/ou susceptibilidade destes à mancha-de-estenfílio. Como padrão suscetível e resistente foram utilizados o híbrido Débora Plus e a variedade Santa Clara, respectivamente.

As sementes das dez cultivares foram semeadas em bandejas de polipropileno, com 128 células, preenchidas com substrato orgânico, produzido pela Fazendinha Agroecológica constituído por vermicomposto como componente básico, fino de carvão vegetal e torta de mamona (Oliveira, 2011). Aos 30 dias após a semeadura, quando todas as mudas apresentavam-se com dois pares de folhas definitivas, foi realizado o transplante destas para copos plásticos contendo solo + esterco bovino e 15 dias depois foram transplantadas para a área experimental. O espaçamento utilizado foi de 1,0 m entre fileiras e 0,5 m entre plantas. Aos 15 dias após o transplante (DAT), realizou-se o tutoramento das plantas com auxílio de fitilho, amarradas em sua base e conduzidas a um fio de arame preso a mourões fincados nas cabeceiras das fileiras de cada bloco. As plantas, à medida que cresciam, eram enroladas aos fitilhos, com o propósito de apoiar o crescimento e evitar seu contato com o solo. O excesso de brotos das plantas foi retirado, deixando-se apenas uma haste por planta. A área foi previamente adubada por meio da aplicação de 43 g cova⁻¹ de cinza e dois litros cova⁻¹ de esterco bovino. Ao longo do ciclo da cultura, o suprimento das necessidades hídricas foi realizado com o sistema de irrigação por aspersão a fim de favorecer o progresso da doença.

Aos 15 DAT, inoculou-se o isolado SENA 302 de *S. solani* (10^5 conídios mL⁻¹) na planta central de cada parcela. Determinou-se a severidade da mancha-de-estenfílio com auxílio da escala diagramática proposta por Boff et al. (1991) com avaliações desde o início do aparecimento dos primeiros sintomas aos 30 DAT, prosseguindo-se aos 37, 44, 51, 57 e 64 dias (5 avaliações). As avaliações foram realizadas em duas plantas por parcela (plantas localizadas ao lado da planta inoculada) sendo avaliados os três folíolos finais de cada folha e a porcentagem de severidade atribuída a sete folhas por planta, 1^a, 2^a, 3^a, 4^a, 5^a, 6^a e 7^a folhas, contadas da base para o ápice. A partir dos dados do progresso da doença foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para cada um dos genótipos avaliados, através da equação de Shaner & Finney (1977): $AACPD = \sum [(Y_{i+n} + Y_i)/2] [(X_{i+1} - X_i)/2]$,

onde Y_i e Y_{i+n} são os valores da severidade observados em duas avaliações consecutivas X_i = o intervalo entre as avaliações (em dias) e n = número total de observações.

Durante a condução do experimento observou-se a ocorrência de outras doenças como oídio, requeima e murcha bacteriana. Para o controle de Oídio foi aplicado o fungicida

Kumulus® DF (80% de Enxofre) na dosagem de 2g L⁻¹. Devido à ocorrência da requeima e murcha bacteriana na área foram realizadas cinco avaliações.

O delineamento utilizado foi o de blocos inteiramente casualizado com quatro blocos e dez cultivares, sendo cada parcela composta por cinco plantas. Os valores de AACPD foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade utilizando-se o programa estatístico SAEG (UFV, 1997).

3.3 Efeito de produtos alternativos sobre o crescimento micelial, produção, germinação de conídios e número de tubos germinativo emitido por conídio de *Stemphylium solani*.

Foram realizados testes *in vitro* visando avaliar a ação inibitória de produtos alternativos como caldas e extratos vegetais, cedidos pela PESAGRO-RIO (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro/Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica), sobre o crescimento micelial, produção de conídios, germinação e número de tubos germinativos de *Stemphylium solani* (Tabela 2). Os extratos de alho, pimenta e canela foram preparados através da secagem do bulbo de alho e frutos de pimenta em estufa ventilada, a aproximadamente 40°C, até a secagem total e uniforme do material. Posteriormente, as partes vegetais foram moídas e colocadas em um recipiente de vidro para a extração alcoólica, com álcool etílico a 70%, por 24 horas, em temperatura ambiente e na ausência de luz. Em seguida, recolheu-se o sobrenadante com pipeta e o extrato foi submetido ao rotavapor para concentração do extrato vegetal. Nesse procedimento, evaporou-se em torno de 80% do álcool etílico. Em sequência, ao volume final do extrato concentrado, adicionou-se caulim, na relação de uma parte de extrato para duas de caulim. Para o preparado de folhas prensadas de fumo de rolo, o processo de secagem foi descartado, passando-se diretamente para a extração alcoólica.

A calda bordalesa na concentração de 1% foi preparada adicionando-se 5 g de sulfato de cobre em um erlenmyer contendo 25 mL de água estéril e submetido à agitação para a total dissolução do sal. Em outro erlenmyer contendo 25 mL de água adicionou-se 3,5 g de cal virgem seguido de agitação. Em seguida procedeu-se a mistura dos dois componentes e adicionou-se 10 mL desta solução final em 90 mL de meio V8. A calda viçosa a 1% foi preparada adicionando a uma solução de 50 mL da calda bordalesa, 4 g de sulfato de magnésio, 0,75 g de ácido bórico e 0,75 g sulfato de zinco, seguido de agitação.

A calda sulfocálcica a 1% foi preparada adicionando-se 6,25g de enxofre e 3,125g de cal virgem a 50 mL de água. Em um recipiente de ferro sobre forno adicionou-se a cal virgem a 25 mL de água, agitando constantemente. No início da fervura, misturou-se o enxofre previamente dissolvido em 25 ml de água quente, também pré-aquecida até a fervura. A calda ficou pronta quando a cor desta solução passou de vermelha para pardo avermelhada e com densidade entre 25 e 28° Bé (graus de Baumé).

Para o preparo da calda sulfocálcica emulsão, primeiramente preparou-se uma emulsão oleosa obtida pela mistura de 20 mL de óleo vegetal comestível e 11,11 mL de detergente líquido neutro, agitando até a formação de uma solução leitosa. Esta solução foi adicionada em 20 mL de calda sulfocálcica. Para a obtenção da concentração de 0,5%, adicionou-se 0,25 mL da calda sulfocálcica emulsão em 50mL de água.

Para montagem dos ensaios *in vitro* tomaram-se alíquotas de 200 e 400 µL das caldas sulfocálcica e sulfocálcica emulsão que foram acrescidos a 100 mL de meio V8 e 10 mL das caldas viçosa e bordalesa que foram acrescidos a 90 mL de meio V8, resultando em concentração final expressa na tabela 2. As concentrações foram definidas com base na recomendação feita aos produtores pela PESAGRO (Fernandes et al., 2008). Os extratos foram adicionados em 100 mL de meio V8.

Como testemunhas foram utilizadas os tratamentos com meio V8 e o fungicida clorotalonil para os ensaios do crescimento micelial e produção de conídios e água e clorotalonil para o ensaio da germinação de conídios.

Tabela 2: Produtos avaliados, parte da planta de onde foram obtidos e concentração final. Seropédica, 2011.

Produtos	Parte da planta utilizada	Concentração
Calda bordalesa	-	1%
Calda viçosa	-	1%
Calda sulfocálcica	-	1%
Calda sulfocálcica emulsão	-	0,5%
Extrato de alho	Bulbo	0,8%
Extrato de fumo	Folha	0,8%
Extrato de canela	Casca	0,8%
Extrato de pimenta malagueta	Fruto	0,8%
Meio V8	-	-
Água	-	-
Clorotalonil	-	0,18%

O crescimento micelial foi avaliado cultivando-se os isolados de *S. solani* em placas de Petri contendo meio de cultura V8 e incubados por 10 dias em BOD regulado para fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C. Em seguida, discos de micélio de 5,0 mm de diâmetro foram retirados dos bordos das colônias e transferidos para o centro de placas de Petri contendo meio V8 acrescido dos diferentes produtos e respectivas concentrações (Tabela 2). As caldas e extratos, em suas diferentes concentrações, foram incorporados ao meio de cultura fundente. Como tratamentos testemunhas foram utilizados placas contendo apenas o meio V8 e placas contendo o meio V8 acrescido de 0,18 g de clorotalonil por 100 ml de meio. Logo após as repicagens, as placas foram acondicionadas em câmara tipo BOD, regulada para 12 horas de fotoperíodo e temperatura de 25° C durante 11 dias. As avaliações foram realizadas diariamente por meio da medição dos diâmetros (mm) das colônias em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento micelial a média das duas medidas.

A avaliação da produção de esporos foi realizada nas mesmas placas utilizadas para estudo do crescimento micelial. Para tanto, aos 11 dias de crescimento, as placas foram transferidas para BOD regulada para 15 °C e 12 horas de fotoperíodo onde foram mantidas por nove dias. Para a quantificação do número de esporos foi inicialmente feita a medição do diâmetro das colônias e, em seguida, acrescido 5,0 mL de água esterilizada por placa e feita a raspagem do micélio com um pincel para remoção dos conídios. A suspensão obtida foi filtrada em gaze e destas foram tomadas três alíquotas para contagem do número de conídios com auxílio de hemacitômetro. A média das três leituras foi transformada em conídios por mm² de colônia, considerando-se a quantidade de conídios produzidos na área ocupada pela colônia em cada placa.

Para avaliar o efeito dos tratamentos sobre a germinação dos conídios, alíquotas de 10 µL de suspensão contendo 2×10^4 conídios.mL⁻¹ foram depositadas em lâminas de vidro seguido de acréscimo de 10 µL dos respectivos produtos conforme Tabela 2. O tratamento testemunha foi representado pela adição à suspensão de conídios de 10 µL de água esterilizada. Posteriormente, as lâminas foram colocadas dentro de uma caixa plástica tipo gerbox contendo papel de filtro umedecido com 20 mL de água destilada, as quais ficaram mantidas em câmara de crescimento tipo BOD por 24 horas a 25° C, em escuro contínuo, conforme Kim et al. (2004). Após o período de 24 horas, foi feita a adição de 10µL de lactofenol sobre as gotas dos respectivos tratamentos. A avaliação da germinação dos conídios foi feita em microscópio óptico pela contagem dos 100 primeiros conídios encontrados em cada gota de suspensão. Foi considerado como germinado aqueles conídios que apresentavam tubos germinativos de tamanho igual ou superior ao comprimento do conídio analisado e os dados expressos em porcentagem de conídios germinados por parcela. Simultaneamente, foi feita a contagem do número de tubos germinativos emitidos por cada conídio germinado.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x9, cinco isolados e nove produtos. Foram utilizadas cinco repetições para cada tratamento, sendo cada parcela composta por uma placa de Petri. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey (p<0,01) para comparação das médias utilizando-se o programa estatístico SAEG (UFV, 1997).

3.4 Caracterização dos isolados quanto a resistência a fungicidas comerciais

Foram realizados testes *in vitro* visando avaliar a sensibilidade de isolados de *S. solani* aos fungicidas clorotalonil, mancozebe, oxicloreto de cobre e tebuconazole, registrados no MAPA (2010) para o controle da mancha-de-estenfílio e utilizados por produtores do estado para controle da doença. Os fungicidas testados no presente trabalho, grupo químico, modo de ação, concentração de ingrediente ativo e as concentrações utilizadas nos ensaios encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Fungicidas registrados no MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) e utilizados para inibição do crescimento micelial, germinação e produção de conídios no controle da mancha-de-estenfílio, causada por *Stemphylium* spp.

Ingrediente ativo (IA)	Grupo químico	Modo de ação	Mecanismo de ação	CIA ¹	Classe Toxicológica	Período de carência (Dias)	Concentração	Recomendação do fabricante
Tebuconazole	Triazol	Sistêmico	Inibição da biossíntese de ergosterol	200 g.L ⁻¹	III	7	0, 0,01, 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 1,25, 1,5 e 2,0 (µL.mL ⁻¹)	1,0 µL.mL ⁻¹
Mancozebe	Ditiocarbamato	Protetor	Inibição de grupos sulfidrilos	750 g.Kg ⁻¹	I	7	0, 150, 1500, 3750, 7500, 11250, 15000, 18750, 22500, 30000 (mg.L ⁻¹)	15000 mg.L ⁻¹
Oxicloreto de Cobre	Cúprico	Protetor	Inativação de enzimas essenciais	840 g.Kg ⁻¹	IV	Sem restrição	0, 20, 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000 (mg.L ⁻¹)	2000 mg.L ⁻¹
Clorotalonil	Nitrila	Protetor	Inibição de grupos sulfidrilos	825 g.Kg ⁻¹	I	7	0, 18, 180, 450, 900, 1350, 1800, 2500, 3000, 3600 (mg.L ⁻¹)	1800 mg.L ⁻¹
Testemunha						Meio V8		

¹Concentração do Ingrediente Ativo; a dose recomendada pelo fabricante corresponde à concentração de 100% listada na tabela.

3.4.1 Avaliação do efeito dos fungicidas sobre o crescimento micelial

Para avaliar a ação dos fungicidas sobre o crescimento micelial montaram-se cinco ensaios, um para cada isolado testado (tabela 3) utilizando-se a mesma metodologia descrita no item 3.3.

Em cada ensaio adotou-se o esquema fatorial 4x9+1 (quatro fungicidas e nove concentrações e tratamento testemunha constituído apenas pelo meio V8) em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada parcela representada por uma placa de Petri. Em seguida calculou-se a porcentagem de crescimento micelial comparado ao tratamento testemunha, apenas o meio V8.

$$\text{Crescimento micelial \%} = \frac{\text{diâmetro da colônia no tratamento} \times 100}{\text{diâmetro da colônia da testemunha}}$$

Os dados transformados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação dos produtos e análise de regressão para avaliação do efeito das concentrações.

3.4.2 Avaliação do efeito dos fungicidas sobre a produção de conídios

A ação dos fungicidas sobre a produção de conídios dos isolados testados foi realizada utilizando a seguinte metodologia. Três discos de micélio retirados dos bordos das colônias (5,0 mm de diâmetro) foram repicados para placas de Petri de 45 mm de diâmetro contendo meio V8. Estas foram mantidas em BOD a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 h por seis dias para promover o crescimento do micélio até o preenchimento de toda a área da placa. Posteriormente, foram adicionadas e distribuídas nas respectivas placas, alíquotas de 200 µL das soluções dos fungicidas em suas respectivas concentrações (Tabela 3). No tratamento testemunha, foi adicionado 200 µL de água esterilizada. Em seguida as placas foram acondicionadas em câmara de crescimento regulada para a temperatura de 15°C e fotoperíodo de 12 h durante 6 dias, para estimular a produção de esporos. Ao término deste período foram adicionados 2,5 ml de água estéril sobre cada placa seguido da raspagem do micélio com um pincel para remoção dos esporos e posteriormente feita a filtragem da suspensão em gaze. Em seguida foi feita a contagem do número de conídios em hemacitômetro, com três leituras por placa. Os dados médios das três leituras foram transformados em conídios por mm² de colônia.

Foram instalados cinco ensaios, um para cada isolado, no esquema fatorial 4x6+1 (quatro fungicidas e seis concentrações e tratamento testemunha constituído apenas pelo meio V8), dispostos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada placa uma parcela. Em seguida calculou-se a porcentagem de produção de conídios, comparado ao tratamento testemunha, e os dados transformados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação dos produtos e análise de regressão para avaliação do efeito das concentrações.

$$\text{Produção de conídios \%} = \frac{\text{número de conídios por mm}^2 \text{ no tratamento} \times 100}{\text{número de conídios por mm}^2 \text{ na testemunha}}$$

3.4.3 Avaliação do efeito dos fungicidas sobre a germinação de conídios

Para avaliar a ação dos fungicidas sobre a germinação de conídios utilizou-se a mesma metodologia descrita no item 3.3.

Foram instalados cinco ensaios, um para cada isolado, em esquema fatorial 4x6+1 (quatro fungicidas e seis concentrações e tratamento testemunha constituído apenas pela água), dispostos em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Em seguida calculou-se a porcentagem de conídios germinados em relação ao tratamento testemunha, e os dados transformados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação dos produtos e análise de regressão para avaliação do efeito das concentrações.

$$\text{Germinação \%} = \frac{\text{porcentagem de conídios germinados no tratamento} \times 100}{\text{porcentagem de conídios germinados na testemunha}}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Caracterização das espécies de *Stemphylium* predominante nas lavouras de tomate no Estado do Rio de Janeiro.

Ao total foram coletados 18 isolados de *Stemphylium* obtidos nos municípios de Paty do Alferes, Queimados, Avelar e Seropédica. Destes, cinco foram caracterizados morfológicamente para determinação da espécie.

Por meio da caracterização morfológica verificou-se que todos os isolados pertencem à espécie *Stemphylium solani*, apresentando as seguintes características: conídios com ápice pontudo, com 3-6 septos transversais, usualmente com uma constrição bem destacada no meio dos septos, apresentando coloração de claro a meio dourado, medindo de 35-55 μ de comprimento a 18-28 μ de largura. A relação comprimento/largura (C/L) foi de 2:1, sendo esta a principal característica que diferencia *S. solani* de *S. lycopersici*, que apresenta uma relação C/L de 3:1 (Ellis, 1971).

Colônias do gênero *Stemphylium* podem ser de coloração cinza, marrom, marrom esverdeada ou preta, textura aveludada ou cotonosa. O micélio pode estar imerso ou parcialmente superficial (Ellis, 1971). As características das colônias dos isolados de *Stemphylium* são compatíveis com as características descritas para a *S. solani*: textura aveludada ou cotonosa, coloração variando de cinza claro a cinza escuro, marrom a marrom esverdeado, micélio imerso ou superficial, com presença ou ausência de setores (Figura 3). Rahman et al. (2010) avaliando as características morfológicas de *S. botryosum* observaram que a colônia do patógeno apresentou coloração marrom esverdeada, formato irregular e textura aveludada.

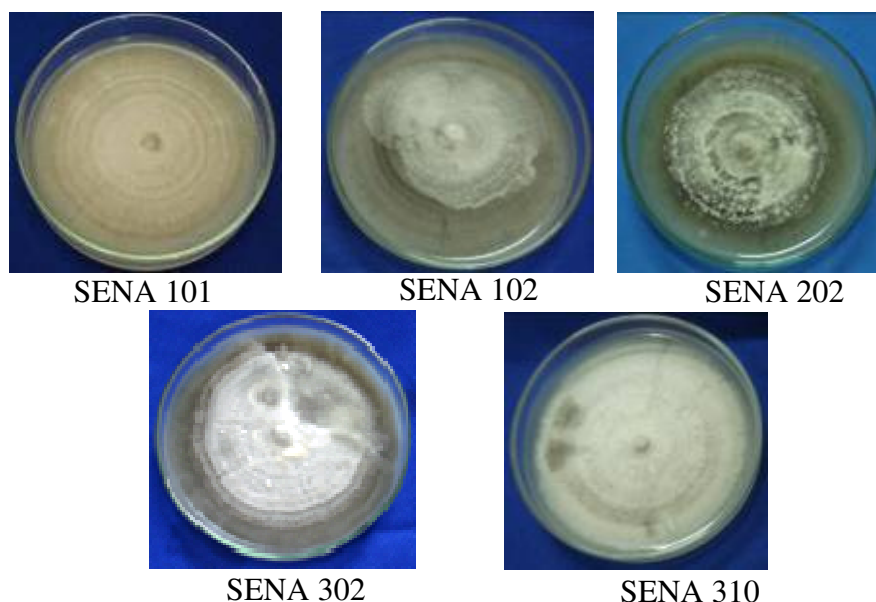


Figura 3: Aspecto e coloração das colônias, cultivadas em meio V8, dos isolados SENA 101, SENA 102, SENA 202, SENA 302 e SENA 310 de *Stemphylium solani* coletados de folhas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica, RJ, 2011.

Observou-se efeito significativo ($p < 0,01$) de isolado sobre a taxa de crescimento das colônias em meio V8, expressa pela área abaixo da curva do crescimento da colônia (AACC), porcentagem de germinação dos conídios e número de tubos germinativos por conídio germinado (NTGE) e sobre a esporulação *in vitro* expressa pelo número de conídios produzidos por mm^2 de colônia (Tabela 4).

Tabela 4: Análise de variância para efeito do isolado de *Stemphylium solani* sobre a taxa de crescimento micelial, expresso pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), germinação dos conídios (%), número de tubo germinativo por conídio germinado (NTGE) e número de conídios produzidos por mm^2 de colônia.

Fonte de variação	GL	AACC	Germinação%	NTGE	¹ Conídios. mm^{-2}
Isolado	4	6035,15**	3076,1*	0,66*	0,6321*
Repetição					0,8130*
Resíduo	20	298,43	46,5	0,074	0,1452
CV		3,95	15,9	18,2	20,5

*Significativo pelo teste F ($p < 0,01$)

¹ Dados transformados em Raiz ($x+1$)

Os isolados puderam ser claramente divididos em dois grupos distintos quanto à taxa de crescimento em meio V8, sendo o primeiro grupo formado pelos isolados SENA 102 e SENA 310 que apresentaram valores de AACC iguais entre si e significativamente maior que os do segundo grupo formado pelos isolados SENA 101, SENA 202, 3, e SENA 302 (Tabela 5). Com relação à germinação dos conídios, verificou-se que o isolado SENA 310 apresentou maior porcentagem de conídios germinados (75,7%) se diferindo estatisticamente dos demais isolados e o isolado SENA 102 exibiu a menor porcentagem (11%), sendo estatisticamente diferente dos demais. O isolado SENA 310, apesar de não diferir estatisticamente do isolado SENA 202 expressou o maior número de tubos germinativos (1,99), se diferindo estatisticamente dos isolados SENA 101, SENA 102 e SENA 302 (Tabela 5). Quanto à produção de conídios, constatou-se que o isolado SENA 302 apesar de não diferir estatisticamente dos isolados SENA 101, SENA 102 e SENA 310, apresentou maior número de conídios produzidos (5,229) (Tabela 5). O isolado SENA 302 caracterizou-se pela alta capacidade de produção de conídios e menor capacidade de crescimento micelial, enquanto o isolado SENA 102 pela alta capacidade de crescimento micelial e baixa germinação dos conídios. Esta diferença entre os isolados quanto à capacidade de crescimento da colônia, germinação e produção de conídios pode estar relacionada à diferença nas características edafoclimáticas das regiões onde os isolados foram coletados ou também ao sistema de manejo de cada lavoura.

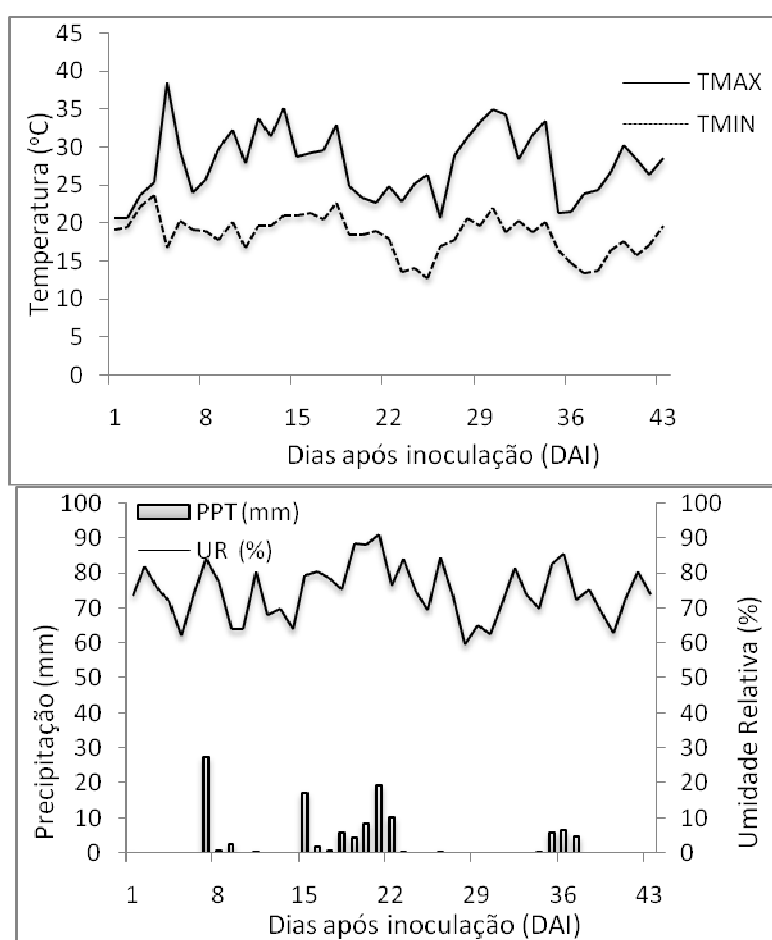
Tabela 5: Efeito de isolado sobre o crescimento micelial (AACC), esporulação (conídios. mm^{-2}) em meio V8 e porcentagem de germinação dos conídios e número de tubos germinativos por conídio germinado (NTGE) de cinco isolados de *Stemphylium solani*.

Isolado	AACC	Conídios. mm^{-2}	Germinação%	NTGE
SENA 102	479,21 a	2,572 ab	11,0 d	1,15 c
SENA 310	468,33 a	3,361 ab	75,7 a	1,99 a
SENA 202	419,71 b	1,205 b	27,4 c	1,76 ab
SENA 302	418,62 b	5,229 a	53,4 b	1,23 c
SENA 101	399,21 b	1,507 ab	46,6 b	1,34 bc

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.
na: não avaliado

4.2 Caracterização de cultivares de tomate plantadas no estado do Rio de Janeiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio

Os primeiros sintomas da mancha-de-estenfílio nas plantas vizinhas às plantas inoculadas foram observados aos 30 dias após o transplante (DAT) e 15 dias após a inoculação (DAI) nas plantas das cultivares Dominador, Serato, Forty, Lumi, Carmem, Débora Plus, Jumbo e Perinha Água Branca, aos 32 DAT e 17 DAI nas plantas da cultivar Santa Clara e aos 35 DAT e 20 DAI nas plantas do Sweet Grape. O desenvolvimento da mancha-de-estenfílio foi favorecido pelas condições favoráveis à doença, temperaturas moderadas, abaixo de 30°C, alta umidade relativa e precipitação, entre 0,6 a 17 mm (Figura 4). Os sintomas iniciais foram observados principalmente nas folhas superiores (folhas 5, 6 e 7) a partir de onde houve disseminação para as demais folhas da planta e demais plantas.



Fonte: INMET (Instituto Nacional de Meteorologia)

Figura 4: Precipitação (mm), umidade relativa (%), temperatura máxima e mínima (°C) na área experimental no período de outubro a novembro. Seropédica, UFRRJ, 2011.

Observou-se pouca variação na severidade da doença ao longo das avaliações nas plantas das cultivares Santa Clara, Dominador, Débora Plus, Jumbo e, principalmente Sweet Grape, que atingiram ao final do ensaio severidade inferior a 4%. Por outro lado, observou-se um crescimento contínuo a partir da segunda avaliação nas plantas de Carmen e, principalmente, Serato e Lumi que atingiram ao final do ensaio severidade igual a 9, 16 e

16% respectivamente (Figura 5). Em geral, a severidade da doença foi maior nas últimas avaliações, principalmente, nas plantas dos híbridos Serato e Lumi (Figura 5). As condições climáticas, temperatura moderada, abaixo de 30°C e alta umidade relativa, provavelmente favoreceram o progresso da doença.

Comportamento similar foi observado no desenvolvimento da doença nas diferentes folhas da planta e expresso pelos valores de AACPD (Figura 6). Todas as cultivares apresentaram menores valores de AACPD nas folhas superiores e maiores nas folhas mais baixas. Com base nas variações nos valores de AACPD podem-se dividir os genótipos em três grupos. Em um primeiro grupo estariam as cultivares Jumbo, Dominador, Santa Clara e Sweet Grape onde se observaram valores de AACPD próximos a 50 nas folhas superiores (folha 7) e pequenos acréscimos nas folhas inferiores até atingir valores próximos à 100 na folha basal (folha 1). No segundo grupo estariam as cultivares Débora Plus, Forty e Perinha Água Branca. No terceiro grupo estariam as cultivares Carmen, Lumi e Serato que apresentaram valores de AACPD próximo a 100 nas folhas superiores e incrementos gradativos até atingir valores próximos a 200 nas folhas basais (Figura 6). As plantas do híbrido Serato foram as que apresentaram maiores valores de AACPD, variado de 100 a 220 desde a folha superior (folha 7) à basal (folha 1), respectivamente. As plantas do Sweet Grape foram as que apresentaram os menores valores, variando de 43 a 88 desde a folha superior à basal, respectivamente.

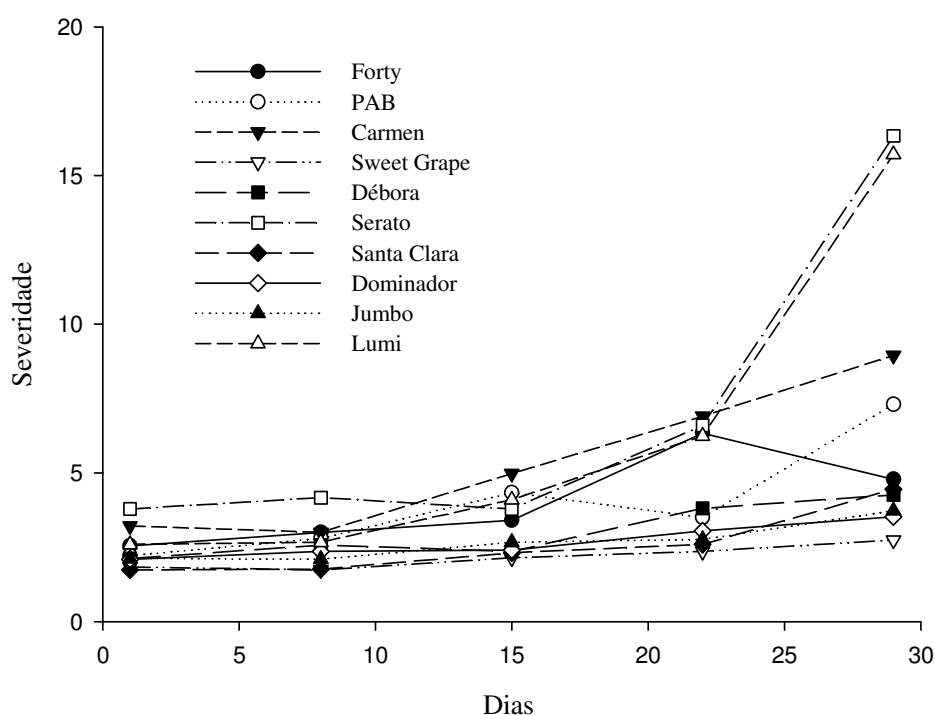


Figura 5: Progresso da mancha-de-estenfílio causada, por *Stemphylium solani*, em dez genótipos de tomateiro.

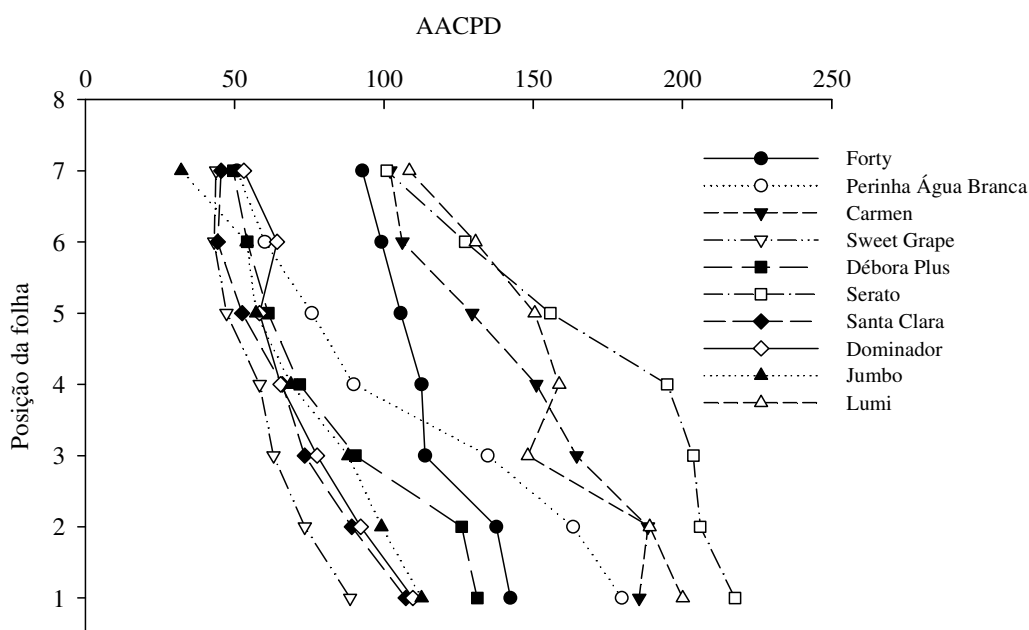


Figura 6: Variação dos valores de AACPD, para a mancha-de-estenfílio causada por *Stemphylium solani*, em função da posição das folhas na planta em dez genótipos de tomateiro.

Esta variação e diferenças entre as cultivares quanto ao progresso da doença (Tabelas 6 e 7) foi confirmada pela análise de variância e comparação das médias dos genótipos considerando cada uma das sete folhas avaliadas e a média das sete folhas. Detectou-se efeito significativo de genótipo ($p < 0,01$) nos valores da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) calculados para cada uma das sete folhas bem como para o resultante da média destas mesmas folhas (Tabela 6). Os coeficientes de variação, porém, foram menores para a média da planta e para os dados obtidos nas folhas 1 e 2.

Considerando o progresso da doença na planta inteira, verificou-se que o híbrido Serato, seguido de Lumi e Carmem apresentaram valores de AACPD (172 a 146) significativamente maiores que os observados em Débora Plus, Jumbo, Dominador, Santa Clara e Sweet Grape (83 a 59), e no intermédio Forty e Perinha Água Branca (114 a 107) (Tabela 7). Perinha Água Branca apresentou comportamento intermediário com valor de AACPD igual a 107,75 (Tabela 7) diferente do encontrado por Rocha (2008) que a classificou como uma das mais suscetíveis entre os genótipos estudados. O híbrido Sweet Grape, apesar de não diferir estatisticamente de cinco dos genótipos estudados, se destacou pelo menor valor de AACPD (59) e possivelmente como o menos suscetível à mancha-de-estenfílio. Outro resultado que merece ser destacado é que o híbrido Débora Plus, citado como suscetível por (Reis & Boiteux, 2006) aqui utilizado como padrão de suscetibilidade, não diferiu estatisticamente da Santa Clara citada como resistente por (Kurozawa & Pavan, 1997) e (Reis & Boiteux, 2006) aqui utilizado como padrão de resistência (Tabela 7). Esta possivelmente é uma dificuldade na avaliação de genótipos em condições de campo apontando para a necessidade de padronização de metodologias para a comparação de genótipos em condições de campo. Resultados semelhantes foram observados por Paula e Oliveira (2001) que relataram a cultivar Santa Cruz Kada AG 373, considerada suscetível à mancha-de-estenfílio, como igual estatisticamente à Santa Clara, padrão resistente.

Para todas as cultivares, maiores valores de AACPD foram observados nas folhas mais velhas (folha 1) e assim gradativamente até as folhas mais jovens (folha 7). Ou seja, os

sintomas da mancha-de-estenfílio, apesar de se manifestarem inicialmente nas folhas mais jovens, progridem com aumento do número e tamanho das lesões nestas folhas à medida que ocorre a emissão de novas folhas na parte superior da planta resultando ao final, em maiores valores de severidade na porção basal da planta (Tabela 7). Este comportamento foi observado no presente ensaio com aparecimento precoce dos sintomas, quando as plantas estavam com aproximadamente 96 dias de idade e com cerca de 9 folhas. No entanto, são necessários estudos com início de sintomas mais tardios para se verificar se este comportamento também ocorre nestas condições. A maioria dos trabalhos não cita em quais folhas são avaliadas a severidade da doença. Paula & Oliveira (2001) avaliaram a severidade em seis folhas por planta, sendo duas folhas do terço superior, duas do terço médio e duas do terço inferior enquanto Rocha (2008) utilizou três folhas por planta, 5^a, 6^a e 7^a folhas contadas do ápice para base.

Independente da posição ou idade da folha obteve-se ao final o mesmo ranqueamento das cultivares, com algumas variações no resultado final do teste de comparação das médias. O híbrido Sweet Grape aparece sempre com o menor valor de AACPD, exceto na folha sete, e em geral como diferente estatisticamente de Serato, Lumi e Carmen que foram sempre os genótipos com maiores valores de AACPD. A cultivar Santa Clara, usada como padrão resistente, aparece sempre com um dos menores valores de AACPD e, em geral, igual estatisticamente a Sweet Grape e a outras cultivares como Dominador e Jumbo, confirmando a sua característica de portadora de resistência quantitativa à mancha-de-estenfílio. A cultivar Débora, usada como padrão suscetível, aparece como suscetível ou intermediária no ranqueamento feito com base na AACPD calculada para as folhas basais e, como resistente no ranqueamento feito com base na AACPD calculada para as folhas mais superiores, exceto folha sete, e com base na média das sete folhas (Tabela 7). Estes resultados permitem inferir que diferenças em resultados de comparação de genótipos de tomate quanto à resistência à mancha-de-estenfílio pode estar associada aos critérios usados para amostragem e avaliação da severidade por diferentes autores. A maioria dos autores como Bashi et al. (1973), Behare et al. (1991), Mehta (2001) e Zheng et al. (2010) utilizaram escalas de notas para avaliar a severidade da mancha-de-estenfílio, enquanto Paula & Oliveira (2001), Miranda et al. (2010) e Rocha (2008) utilizaram a escala de Boff et al. (1991). Não existem em geral informações quanto ao número, idade da planta e posição da folha utilizada nas avaliações e os poucos relatos não apresentam concordância. Paula & Oliveira (2001) avaliou a severidade da doença quando as plantas estavam com 66 dias de idade e em seis folhas por planta, sendo duas de cada terço da planta (superior, médio e inferior). Rocha (2008) fez esta avaliação quando as plantas estavam com 92 dias de idade e as notas atribuídas em três folhas por planta, 5^a, 6^a e 7^a folhas contadas do ápice para base.

Outro consenso entre a maioria dos autores é quanto ao uso dos valores de Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para comparação de genótipos, como também proposto por Jeger (2004). Paula & Oliveira (2003) também utilizaram os valores de AACPD para comparar a suscetibilidade e/ou resistência de genótipos de tomateiro a *Alternaria solani*. Da mesma forma, Miranda et al. (2010) relatam que a AACPD é um parâmetro que pode ser utilizado na seleção de genótipos ou de populações segregantes de tomate para resistência a *Stemphylium* spp.

Paula & Oliveira (2001), estudando a resistência de 16 genótipos de tomateiro à *S. solani*, em condições de campo, com um total de sete avaliações também observaram diferenças significativas entre os genótipos avaliados e indicaram a seleção de apenas dois como promissores para o uso em futuros programas de melhoramento genético. Os valores médios de AACPD encontrados no presente trabalho (59,66 a 172,25) foram inferiores aos

observados pelos autores acima (182,21 a 880,70). Entre os genótipos com menor AACPD está a Santa Clara que teve um valor de AACPD igual a 540,92, maior que o valor encontrado neste trabalho 68,33. Esta diferença pode estar relacionada às condições ambientais predominantes nos respectivos ensaios, grau de resistência/suscetibilidade dos genótipos testados, critério de avaliação utilizado e período de duração da epidemia utilizado para o estudo do progresso da doença e cálculo da AACPD.

Miranda et al. (2010) estudaram a reação de genótipos cultivados e silvestres de tomateiro a isolados de *S. solani* e *S. lycopersici* e identificaram 35 genótipos resistentes a *S. solani* e *S. lycopersici* nas espécies *S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. chilense*, *S. pimpinellifolium* e *S. peruvianum*. Um grande número de genótipos resistentes foi identificado dentro das espécies *S. habrochaites* e *S. peruvianum*. Muitos destes genótipos, principalmente das espécies *S. habrochaites* e *S. peruvianum*, ainda não tinham sido relatados como resistentes a *S. solani* e *S. lycopersici*. De acordo com Hendrix & Frazier (1949) o grau e severidade dos sintomas causados por *Stemphylium* são influenciados pelas condições ambientais e variações nas respostas à doença podem, portanto ser observadas para genótipos com idêntica resistência (Behare, 1991). Segundo Mello (1995), a avaliação de acessos sob várias condições ambientais, favoráveis e desfavoráveis ao desenvolvimento da doença, é muito importante para confirmar se a resistência é expressa de maneira estável. Conforme Paula & Oliveira (2003), é necessário também a avaliação para resistência em diferentes locais e com diferentes intensidades da doença para a confirmação desta característica.

Tabela 6: Análise de variância para o efeito de genótipo de tomateiro sobre o progresso da mancha-de-estenfílio, causada por *Stemphylium* spp. expresso pelos valores de AACPD calculados para todas as folhas da planta e para a planta inteira.

Fonte de Variação	GL	Folha1	Folha2	Folha 3	Folha 4	Folha 5	Folha 6	Folha 7	Planta
Genótipo	9	8076,16*	9183,40*	8417,17 *	9349,86*	7166,34*	4636,79*	3440,64*	6530,36*
Bloco	3	1176,36	131,16	547,71	103,98	201,80	111,37	60,97	122,33
Resíduo	27	1109,01	641,02	990,82	1222,92	1156,40	462,43	632,03	423,50
CV %		22,5	18,5	27,19	33,7	38,0	27,4	37,02	19,4

* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Tabela 7: Efeito de genótipo de tomateiro sobre o progresso da mancha-de-estenfílio, causada por *Stemphylium* spp., expresso pelos valores de AACPD calculados para todas as folhas da planta e para a planta inteira.

Genótipo	AACPD (%)*							
	Folha 1	Folha 2	Folha 3	Folha 4	Folha 5	Folha 6	Folha 7	Planta
Serato	217,58 a	205,91 a	203,58 a	194,83 a	155,75 a	127,16 a	100,91 ab	172,25 a
Lumi	200,08 ab	189,00 ab	148,16 abc	158,66 ab	150,50 ab	130,66 a	108,50 a	155,08 ab
Carmen	185,50 abc	188,41 ab	164,50 ab	151,80 ab	129,50 abc	106,16 ab	102,08 ab	146,75 ab
Per. Água Branca	179,66abc	163,33 abc	134,75 abc	89,83 b	75,83 abc	60,08 bc	50,75 ab	107,75 bc
Forty	142,33 abc	137,66 abcd	113,75 abc	112,58 ab	105,58 abc	99,16 abc	92,75 ab	114,83 abc
Débora Plus	131,25 abc	126,00 bcd	90,41 bc	71,75 b	61,25 abc	54,25 bc	49,58 ab	83,50 c
Jumbo	112,58 bc	99,16 cd	88,08 bc	68,83 b	57,16 abc	53,95 bc	32,08 b	73,12 c
Dominador	109,66 bc	92,16 cd	77,58 bc	65,33 b	58,33 abc	64,16 bc	53,08 ab	74,33 c
Santa Clara	107,33 bc	89,25 d	73,50 bc	65,91 b	52,50 bc	44,33 bc	45,50 ab	68,33 c
Sweet Grape	88,66 c	73,50 d	63,00 c	58,33 b	47,25 c	43,16 c	43,75 ab	59,66 c

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,01$)

4.3. Efeito de produtos alternativos sobre o desenvolvimento de *Stemphylium solani*, *in vitro*.

Observou-se efeito significativo da interação produto x isolado ($p < 0,01$) sobre a taxa de crescimento da colônia, porcentagem de germinação de conídios, número de tubos germinativos emitidos por conídio germinado e número de conídios produzidos por mm^2 de colônia (Tabela 8).

Tabela 8: Análise de variância para efeito de produto e isolado de *Stemphylium solani* e da interação produtos x isolados sobre a taxa de crescimento da colônia, expresso pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), germinação dos conídios (%), número de tubos germinativos por conídio germinado e do número de conídios produzidos por mm^2 de colônia.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio			GL	Quadrado Médio
		AACC	Germinação %	Número de tubos germinativos		
Produto	9	1239512,0*	10406,7*	0,9255*	6	3,7293*
Isolado	4	1347,0*	1518,6*	1,7178*	4	0,4096*
Produto*isolado	36	1667,1*	749,5*	0,3638*	24	0,4614*
Resíduo	200	153,2	41,5	0,0319	140	0,1092
CV%		4,1	17,5	12,6		26,2

* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$)

Todos os isolados apresentaram bom crescimento no meio V8, com destaque para os isolados SENA 302, SENA 102 e SENA 310. Estes apresentaram, porém, resposta diferenciada aos produtos (extrato, calda ou fungicida aplicados ao meio) exceto as caldas viçosa e bordalesa que inibiram totalmente o crescimento de todos os cinco isolados testados (Tabela 9). Esta diferença pode estar associada à origem geográfica dos isolados ou sistemas de manejo ou cultivo adotado nas lavouras das quais foram obtidos. Os isolados SENA 310 e SENA 302 foram obtidos de cultivos na região de Paty do Alferes com uso contínuo de fungicidas como tebuconazole, mancozebe, clorotalonil, oxicloreto de cobre e difenoconazole e os isolados SENA 202, SENA 101 e SENA 102 de Seropédica onde era adotado o manejo orgânico e aplicações de calda bordalesa. Peres et al. (2003) estudaram a variabilidade morfocultural e genética de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phoma caricae-papayae* e *Fusarium solani*, associados à podridão penduncular do mamão (*Carica papaya* L.), procedentes de diferentes regiões e constataram que o índice de crescimento micelial foi variável entre os isolados estudados, mesmo naqueles provenientes de um mesmo Estado. Segundo estes autores, a variação no crescimento micelial pode estar relacionada à origem dos isolados, coletados em regiões com características edafoclimáticas diferentes ou em lavouras com manejos distintos. Além disso, a variabilidade dos isolados pode ser influenciada por algum fator intrínseco ao patógeno, genótipo do hospedeiro ou interação entre esses fatores (Peres et al., 2003). Serra & Silva (2005) observaram diferenças nas taxas de crescimento do micélio de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão cultivados em diferentes localidades.

Dentre os diferentes produtos testados destacam-se a calda bordalesa e a calda viçosa que inibiram totalmente o crescimento de todos os cinco isolados (0 mm.dia^{-1}) mais que o clorotalonil. Considerando a média dos cinco isolados, o clorotalonil apesar de ter reduzido

significativamente o crescimento micelial comparado à outra testemunha, o meio V8, ainda permitiu o crescimento das colônias, que atingiram ao final de 11 dias cerca de 24,32 mm de diâmetro. Comparado aos dois padrões, meio V8 e clorotalonil, apenas dois mais produtos foram eficientes na redução do crescimento micelial, a calda sulfocálcica e a calda sulfocálcica em emulsão. Os extratos de pimenta, alho, fumo estimularam o crescimento micelial, enquanto o de canela não afetou o crescimento não tendo diferido da testemunha meio V8 (Tabela 9).

Considerando o resultado para cada isolado pode-se observar que os extratos de pimenta e fumo estimularam o crescimento dos isolados SENA 310, SENA 202 e SENA 101 e que os extratos de alho e canela ora estimularam o crescimento, como no caso dos isolados SENA 202 e SENA 101, ora não afetaram o crescimento micelial. As caldas sulfocálcica em emulsão e, principalmente em sua formulação original, reduziram o crescimento de todos os isolados e para alguns em intensidade igual ou maior que o próprio clorotalonil (Tabela 9).

Comparando os diferentes isolados dentro de cada produto observa-se que os isolados SENA 302 e SENA 102 foram os que apresentaram maior crescimento na testemunha meio V8 e os isolados SENA 101 e SENA 202 o menor crescimento. Os extratos de pimenta e fumo e o clorotalonil proporcionaram maior crescimento do isolado SENA 310 e o de alho do isolado SENA 102, comparados aos demais. Na presença do extrato de canela não houve diferenças entre os isolados. Considerando os dois tratamentos que reduziram o crescimento micelial, calda sulfocálcica e clorotalonil, destacam-se os isolados SENA 310, SENA 102 e SENA 101 como os mais sensíveis ao primeiro e isolados SENA 101 e SENA 102 como os mais sensíveis ao segundo (Tabela 9).

Tabela 9: Efeito da interação produto e isolado de *Stemphylium* spp. sobre a taxa de crescimento da colônia, expresso pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), em meio V8.

Produto	Crescimento Micelial (AACC)					Média
	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102	
Pimenta	540,8 A a	498,6 C ab	507,0 BC a	520,2 B a	494,6 C a	512,2 a
Fumo	534,3 A a	489,9 B ab	498,1 B ab	501,7 B ab	497,5 B a	504,0 ab
Alho	509,9 AB b	505,8 AB a	481,3 B c	483,0 AB b	525,9 A a	501,2 ab
Canela	507,6 A b	497,0 A ab	487,1 A bc	489,1 A b	511,3 A a	498,4 bc
Meio V8	490,9 BC b	475,4 CD b	510,1 A a	456,6 D c	502,9 AB a	487,2 c
Sulfocálcica EM ¹	233,7 B c	223,5 B c	236,4 B d	276,8 A d	238,3 B b	241,7 d
Sulfocálcica	106,4 C e	124,4 B d	186,1 A e	115,4 BC e	105,3 C c	127,5 e
Clorotalonil	137,7 A d	126,8 AB d	126,3 AB f	107,0 C e	117,6 BC c	123,1 e
Viçosa	0,0 A f	0,0 A e	0,0 A g	0,0 A f	0,0 A d	0,0 f
Bordalesa	0,0 A f	0,0 A e	0,0 A g	0,0 A f	0,0 A d	0,0 f
Média	306,1 A	294,1 B	303,1 A	295,0 B	299,3 AB	

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹ Calda sulfocálcica em Emulsão

O efeito de extratos de plantas e caldas sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos também tem sido demonstrado em outros trabalhos. Silva et al. (2009) também não observaram ação de extrato de alho sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. Viegas et al. (2005) relatam inibição do crescimento micelial de *Aspergillus flavus* por óleos essenciais de bulbilhos de alho e, principalmente, de casca de canela. Venturoso et al. (2011) relatam atividade antifúngica *in vitro* dos extratos de bulbos

alho, casca de canela e botão floral do cravo-da-índia, sobre *Cercospora kikuchii*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp. e *Phomopsis* sp. Relatam, ainda, que o extrato de alho resultou em atividade antifúngica intermediária sobre o crescimento de *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp. e *Phomopsis* sp. e, inibição total de *C. kikuchii* à concentração de 10 e 20 %. O extrato de canela apresentou maior atividade antifúngica nas maiores concentrações testadas, sem, no entanto, ocorrer total inibição dos fungos fitopatogênicos estudados. Domingues et al. (2009) constataram que o extrato de bulbilhos de alho, na concentração de 10000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (1%) inibiu totalmente o crescimento micelial de *Alternaria solani*. Pedroso et al. (2009) com o objetivo de testar a capacidade inibitória dos extratos de arruda, louro, bulbo de alho e manjerição sobre o crescimento micelial de *Alternaria solani*, verificaram que todos os extratos foram eficientes na inibição do crescimento micelial do patógeno a partir da concentração de 10%, apresentando assim ação fungitóxica. Sallam (2011) verificou que o extrato de folhas de alho na concentração de 1% inibiu o crescimento micelial de *Alternaria solani* em 32% e na concentração de 5% em 42%. A maioria destes resultados se refere ao uso de concentrações maiores que as utilizadas neste trabalho, o que possivelmente pode explicar as diferenças de resultados.

Arun Kumar (2008) estudou o efeito *in vitro* do extrato de bulbilho de alho sobre o crescimento micelial de *A. alternata* em crisântemo e observou que a porcentagem de inibição do crescimento do patógeno foi de 13,08, 14,37 e 15,36%, nas concentrações de 2,5%, 5% e 10%, respectivamente. Enquanto Carvalho et al. (2002) verificaram que o extrato obtido de bulbo de alho não teve nenhum efeito sobre o crescimento micelial de *Curvularia eragrostides*. Esta informação corrobora com o resultado obtido neste estudo.

Ribeiro & Bedendo (1999) avaliaram *in vitro* o efeito inibitório dos extratos vegetais de bulbilho de alho, folhas de mamona e hortelã, frutos de pimenta sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. Eles constataram que todos os extratos testados demonstraram propriedades fungitóxicas a partir da concentração de 200 ppm (0,02%). O extrato de alho inibiu significativamente o crescimento do micélio nas concentrações de 200 (0,02%) a 10000 ppm (1%), enquanto os demais extratos promoveram uma inibição menos acentuada. A capacidade fungitóxica do extrato de bulbilho de alho também foi relatada por Vieira et al. (2011), onde observaram a inibição do crescimento micelial de *Fusarium* sp. e *Curvularia* sp. Além disso, constataram que as maiores concentrações do extrato proporcionaram maior potencial antifúngico.

Dias et al. (2010) avaliaram a ação *in vitro* do extrato de casca de canela sobre o crescimento micelial de *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*. Os autores constataram que o extrato seco de canela inibiu totalmente o crescimento do micélio de *C. cladosporioides in vitro* na concentração de 30 mg.mL^{-1} (3%) e de *C. lindemuthianum* na concentração de 50 mg.mL^{-1} (5%).

Almeida et al. (2009) estudaram o potencial de vários extratos de plantas, entre eles os obtidos de bulbo de alho e folhas de fumo sobre o controle de *Colletotrichum acutatum*. Eles observaram que o extrato de fumo exerceu melhor controle sobre o desenvolvimento micelial do patógeno, seguido do extrato de arruda e alho. O efeito do extrato de folhas de fumo também foi estudado por Suleiman (2011) que verificou efeito fungitóxico deste sobre o crescimento micelial dos patógenos *Aspergillus viridae*, *Penicillium digitatum* e *Rhizopus* sp. em tomate.

Apesar de ser relatado na literatura o efeito inibitório dos extratos de alho, pimenta, canela e fumo sobre o crescimento micelial de vários fungos, neste trabalho, os extratos não apresentaram efeito fungitóxico sobre os isolados de *S. solani*, estimulando o crescimento em alguns. Segundo (French, 1992), os extratos vegetais produzem compostos voláteis que podem estimular ou inibir a germinação ou o crescimento de microorganismos, ou

desencadear alterações no desenvolvimento de plantas e fungos. Neste caso, o estímulo do crescimento micelial pode ter sido devido a estes compostos voláteis, que ao contrário de inibir, estimularam o crescimento de *S. solani*.

Trabalhos *in vitro* com as caldas bordalesa, sulfocálcica e viçosa são mais escassos. Celoto (2009) avaliou o efeito *in vitro* das caldas bordalesa a 1% (75%), sulfocálcica (75%), sulfocálcica (3%) e viçosa (75%) sobre o crescimento micelial de *Corynespora cassiicola*. Este autor verificou que a calda sulfocálcica a 75% foi a única a inibir totalmente o crescimento do micélio. A calda bordalesa proporcionou 74% de inibição, a calda sulfocálcica a 3%, inibiu em 57% e a calda viçosa foi a menos eficiente inibindo em 44% o crescimento micelial do patógeno. Cruz et al. (2010) relataram que o extrato de alho inibiu em 76% o crescimento micelial de *Corynespora cassiicola* e que a calda bordalesa promoveu 100% de inibição, resultado semelhante ao encontrado para a calda bordalesa no presente estudo.

Quanto ao efeito da interação dos tratamentos produto x isolado sobre a germinação dos conídios de *S. solani*, observou-se que os cinco isolados responderam de forma diferenciada aos produtos testados. Estes, de forma geral apresentaram boa germinação em água (>65%), exceto o isolado SENA 102 que se caracterizou pela baixa porcentagem de germinação de seus conídios, em torno de 11%. Considerando a média dos cinco isolados, observa-se maior porcentagem de germinação na testemunha água e que, diferente do relatado anteriormente para o crescimento micelial, as caldas sulfocálcica simples e em emulsão não afetaram a germinação dos conídios de *S. solani* (Tabela 10). Também considerando a média dos cinco isolados, a menor germinação dos conídios foi observada nos tratamentos calda bordalesa, calda viçosa e clorotalonil, 11%, 8% e 7%, respectivamente (Tabela 10). Os extratos de alho, fumo, canela e pimenta também reduziram a germinação dos conídios, comparado à testemunha água, porém de forma menos eficiente que os três produtos anteriormente mencionados.

Comparando-se o comportamento de cada um dos cinco isolados quanto à reação a cada produto verificaram-se respostas diferenciadas. Os isolados SENA 310, SENA 202, SENA 302 e SENA 101 apresentaram, de forma geral, comportamento similar quanto à sensibilidade aos extratos com algumas variações. O isolado SENA 102 teve comportamento atípico e totalmente diferente dos quatro isolados anteriores. Para os quatro primeiros isolados (SENA 310, SENA 202, SENA 302 e SENA 101), as caldas viçosa e bordalesa resultaram em significativa redução da germinação dos conídios, igual à da testemunha clorotalonil enquanto as caldas sulfocálcica, simples ou em emulsão, apenas em pequena redução comparado à testemunha água. O extrato de alho resultou em resposta variável conforme o isolado, tendo reduzido a germinação dos conídios dos isolados SENA 101 e SENA 202 e não afetado a dos isolados SENA 302 e SENA 310. Os extratos de fumo e pimenta reduziram a germinação destes quatro isolados comparados à testemunha água e o de canela a dos isolado SENA 101, SENA 202, SENA 302. O isolado SENA 102, caracteristicamente com baixa germinação de conídios, por sua vez apresentou comportamento totalmente diferente dos quatro anteriores. Comparado à testemunha água (germinação de 11%), as caldas viçosa e bordalesa e o fungicida clorotalonil (germinação igual a 8, 4 e 9%, respectivamente) não afetaram significativamente a germinação dos conídios enquanto o extrato de canela e, principalmente, os de fumo, alho e pimenta e as caldas sulfocálcica, simples ou em emulsão, a estimularam significativamente (32 a 55%) (Tabela 10).

Tabela 10: Efeito da interação produto e isolado de *Stemphylium* spp. sobre a germinação dos conídios (%).

Produto	Germinação de conídios %					Média
	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102	
Água	82,2 A a	72,8 B a	65,4 C a	67,4 BC a	11,60 D c	59,8 a
Sulfocálcica EM ¹	60,6 A b	62,4 A ab	43,2 A cd	62,4 A a	49,8 A a	55,6 a
Sulfocálcica	64,4 A b	63,6 A ab	42,2 C cd	44,8 BC b	55,8 AB a	54,1 ab
Alho	69,2 A ab	36,2 CD c	60,8 AB ab	29,0 D cd	48,6 BC a	48,7 bc
Fumo	40,4 A c	52,4 A b	50,0 A bc	39,6 A bc	49,8 A a	46,3 cd
Canela	67,4 A ab	30,6 B c	40,4 B cd	31,0 B bcd	32,4 B b	40,3 de
Pimenta	39,6 A c	34,0 AB c	33,6 AB d	20,8 B de	50,2 A a	35,6 e
Bordalesa	9,0 AB d	14,2 A d	10,0 AB e	14,6 A ef	8,0 B c	11,1 f
Viçosa	9,4 AB d	12,4 A d	8,4 ABC e	7,8 BC ef	4,6 C c	8,5 f
Clorotalonil	11,0 A d	7,2 B d	8,2 AB e	2,8 C f	9,0 AB c	7,6 f
Média	45,2 A	38,5 B	36,2 B	32,0 C	31,9 C	

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

¹ Calda sulfocálcica em Emulsão.

Em relação à ação dos produtos sobre a emissão de tubos germinativos, observaram-se pequenas variações entre os isolados, mas em geral, uma mesma tendência (Tabela 11). Considerando a média de todos os cinco isolados, nota-se que apenas os tratamentos com as caldas viçosa e bordalesa e o fungicida clorotalonil reduziram significativamente o número de tubos por conídio germinado em relação à testemunha água. Para o isolado SENA 310, os tratamentos com a calda bordalesa (1,34), o fungicida clorotalonil (1,2) e os extratos de fumo (1,27) e pimenta (1,44) foram os que exibiram menor número de tubos germinativos por conídio germinado, ao contrário do tratamento com água (2,14) e com os extratos de canela (1,98) e alho (1,89) que exibiram maior número de tubo germinativo. Quanto ao isolado SENA 202, os tratamentos com os extratos de pimenta (1,3) e canela (1,13), caldas viçosa (1,26) e bordalesa (1,13) e fungicida clorotalonil (1,13) apresentaram menor número de tubo germinativo por conídio germinado. Os tratamentos com as caldas sulfocálcica (1,83) e sulfocálcica emulsão (1,73) resultou em maior número de tubo germinativo por conídio germinado, porém sem se diferenciar estatisticamente do tratamento com água (1,7) (Tabela 11).

Para o isolado SENA 302, observou-se menor número de tubo germinativo por conídio germinado para a calda viçosa (1,06) e o fungicida clorotalonil (1,06), que não diferiram estatisticamente da calda bordalesa (1,15) e do extrato de pimenta (1,16). Quanto à sensibilidade do isolado SENA 101 aos produtos, verificou-se que os tratamentos com os extratos de alho (1,14), pimenta (1,10) e canela (1,10), com as caldas viçosa (1,07) e bordalesa (1,22) e o fungicida clorotalonil (1,07) foram os produtos que proporcionaram menor número de tubo germinativo por conídio germinado, sendo estatisticamente iguais. Os tratamentos com extratos de fumo (1,53) e a calda sulfocálcica emulsão (1,62) foram os que resultaram em maior número de tubos germinativos por conídio germinado, sendo o segundo estatisticamente diferente do tratamento com água (1,26). A calda sulfocálcica (1,30) foi estatisticamente igual ao tratamento com água. Para o isolado SENA 102 os tratamentos com as caldas viçosa (1,28) e bordalesa (1,70) e o fungicida clorotalonil (1,04) foram os que resultaram em menor número de tubo germinativo por conídio, não havendo diferença estatística significativa entre estes e o tratamento com água (1,11). Observou-se, ainda, para este isolado, que os tratamentos com calda sulfocálcica, simples e em emulsão, e os extratos de alho, fumo e pimenta estimularam a emissão de tubos germinativos (Tabela 11).

Tabela 11: Efeito da interação produto e isolado de *Stemphylium* spp. sobre o número de tubos germinativos por conídio germinado.

Produto	Número de tubos germinativos conídio ⁻¹					Média
	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102	
Sulfocálcica	1,71 B abcd	1,83 B a	1,27 C ab	1,30 C bc	2,32 A a	1,68 a
Sulfocálcica EM ¹	1,69 A abcd	1,73 A a	1,26 B ab	1,62 AB a	1,72 A BC	1,60 ab
Alho	1,89 A abc	1,36 B bcd	1,28 B ab	1,14 B c	1,99 A ab	1,53 abc
Água	2,14 A a	1,70 B ab	1,42 BC a	1,26 CD bc	1,11 D ef	1,52 abc
Pimenta	1,44 B cd	1,30 B cd	1,16 B bc	1,10 B c	2,37 A a	1,47 bc
Fumo	1,27 A d	1,53 A abc	1,38 A a	1,53 A ab	1,58 A bcd	1,45 bc
Canela	1,98 A ab	1,13 C d	1,26 C ab	1,10 C c	1,48 B cde	1,39 cd
Viçosa	1,46 A bcd	1,26 AB cd	1,06 B c	1,07 B c	1,28 AB def	1,22 de
Bordalesa	1,34 A d	1,13 A d	1,15 A bc	1,22 A c	1,70A ef	1,18 e
Clorotalonil	1,2 A d	1,13 A d	1,06 A c	1,07 A c	1,04 A f	1,09 e
Média	1,61 A	1,41 B	1,22 C	1,23 C	1,59 A	

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

¹ Calda sulfocálcica em Emulsão.

Verificaram-se respostas diferenciadas para o comportamento de cada isolado dentro de cada produto. Os isolados SENA 310 e SENA 102 foram os que tiveram maior número de tubo germinativo por conídio quando tratados com o extrato de alho e os isolados SENA 202, SENA 302 e SENA 101 apresentaram menor número, não havendo diferença estatística entre eles. Quando submetidos ao tratamento com extrato de pimenta, observou-se que o isolado SENA 102 apresentou maior número de tubos germinativos, sendo estatisticamente diferente dos demais isolados. Em relação ao extrato de canela, os isolados SENA 202, SENA 302 e SENA 101 demonstraram os menores valores, enquanto maior número foi encontrado no isolado SENA 310. Quanto à calda sulfocálcica, o isolado SENA 102 expressou maior número de tubos germinativos, ao contrário dos isolados SENA 302 e SENA 101 que expressaram menor número. Os isolados SENA 310, SENA 202 e SENA 102 apresentaram maior número de tubo germinativo por conídio germinado, quando submetidos ao tratamento com a calda sulfocálcica emulsão, porém não diferiram estatisticamente do isolado SENA 101. Quando os isolados foram submetidos aos tratamentos com a calda viçosa verificou-se que os isolados SENA 302 e SENA 101 apresentaram menor número de tubos germinativos por conídio e o isolado SENA 310 maior número. Verificou-se também que quando os isolados foram submetidos ao tratamento com água, o isolado SENA 310 mostrou ter maior número de tubos germinativos e os isolados SENA 101 e SENA 102 menor número. Não houve diferença estatística significativa entre os isolados quando estes foram tratados com o extrato de fumo, calda bordalesa e o fungicida clorotalonil (Tabela 11).

Segundo Abreu (2006) a inibição da germinação de conídios é fundamental para o controle de doenças, pois essa estrutura é o ponto de partida para propagação e sobrevivência dos fungos, principalmente, quando o ambiente está inadequado para desenvolvimento dos mesmos. Para se obter sucesso na utilização de um óleo essencial como fungicida é preciso que ele iniba não apenas as hifas de um fungo, mas também a germinação dos conídios. Domingues et al. (2009) verificaram que o extrato hexânico obtido de bulbilho de alho na concentração de 1000 µg.mL⁻¹ (0,1%) inibiu totalmente a germinação de conídios de *Alternaria solani*. Almeida et al. (2009) observaram que os extratos de bulbo de alho e folhas de fumo, quando comparado com os extratos de arruda, gengibre, vinca, losna, cebola, arnica e neem, não foram eficientes na inibição da germinação de conídios de *Colletotrichum acutatum*. No trabalho conduzido por Wilson et

al. (1997) com o fungo *Botrytis cinerea* foi demonstrado que os extratos de alho e de plantas do gênero *Capsicum* foram os que apresentaram os maiores índices de atividade antifúngica. Abreu (2006) testou *in vitro* a ação inibitória de vários óleos essenciais de plantas no desenvolvimento do fungo *Alternaria solani*, entre eles o de canela. Este autor relata que o extrato de canela nas concentrações de 0, 250 e 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (0, 0,025 e 0,05%) não afetou a germinação. No entanto, a partir das concentrações de 750, 1000 e 5000 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (0,07, 0,1, 0,5%) o óleo de canela proporcionou inibição total da germinação dos conídios. Celoto (2009) testou o efeito *in vitro* das caldas sulfocálcica (3%), sulfocálcica (75%) bordalesa a 1% (75%) e viçosa (75%) sobre a germinação de *Corynespora cassiicola*, e constataram que todas as caldas inibiram totalmente a germinação dos esporos deste patógeno.

Quanto ao efeito dos produtos sobre a esporulação, expressa pelo número de conídios produzidos por área da colônia, observou-se efeito semelhante dos produtos sobre os cinco isolados e resposta semelhante dos isolados a cada produto. Neste caso não foram avaliadas as caldas viçosa e bordalesa, por terem o crescimento micelial de todos os isolados inibido totalmente. A calda sulfocálcica em emulsão destacou-se por estimular significativamente a produção de conídios em todos os isolados testados com destaque para os isolados SENA 310 e SENA 101 que apresentaram maiores incrementos na produção de conídios comparados aos demais. Para o isolado SENA 202, que originalmente se destaca pela maior capacidade de esporulação, o tratamento com calda sulfocálcica em emulsão não afetou esta característica tendo sido igual à testemunha meio V8 enquanto os tratamentos com calda sulfocálcica simples e extratos de alho, fumo, canela e pimenta reduziram significativamente a produção de conídios. Para os demais isolados, SENA 310, SENA 302, SENA 101 e SENA 102, estes tratamentos não diferiram da testemunha meio V8 (Tabela 12).

Tabela 12: Efeito da interação produto x isolado de *Stemphylium* spp. sobre o número de conídios produzidos por mm^2 de colônia em meio V8.

Produto	Número de conídios mm^{-2}					Média
	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102	
Sulfocálcica EM ¹	11,95 A a	1,65 B a	2,10 B a	5,22 AB a	1,78 B a	2,13 a
Meio V8	0,09 B b	1,62 A a	0,21 B b	0,07 B b	0,33 B b	1,18 b
Canela	0,61 A b	0,33 A b	0,25 A b	0,33 A b	0,28 A b	1,15 b
Sulfocálcica	0,18 BC b	0,33 A b	0,18 BC b	0,06 C b	0,27 AB b	1,09 b
Fumo	0,46 A b	0,04 A b	0,27 A b	0,06 A b	0,08 A b	1,08 b
Pimenta	0,20 A b	0,16 A b	0,17 A b	0,16 A b	0,17 A b	1,08 b
Alho	0,09 AB b	0,49 A b	0,09 AB b	0,04 B b	0,23 AB b	1,08 b
Média	1,44 A	1,25 AB	1,18 B	1,23 AB	1,17 B	

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

¹ Calda sulfocálcica em Emulsão.

Não houve diferenças significativas entre os cinco isolados quando submetidos aos extratos de canela, fumo e pimenta. Quando os isolados foram submetidos ao extrato de alho e à calda sulfocálcica, porém, houve variação entre os mesmos com menor produção de conídios pelo isolado SENA 101 e maior produção pelo isolado SENA 202. A calda sulfocálcica em emulsão, por sua vez, além de estimular a produção de conídios de todos os isolados apresentou efeito muito mais acentuado sobre os isolados SENA 310 e SENA 101. No tratamento com meio V8, maior produção de conídios foi verificada no isolado SENA 202, diferente estatisticamente dos demais isolados (Tabela 12). Ribeiro e Bedendo (1999) avaliando *in vitro* o efeito inibitório de extratos vegetais sobre a produção de conídios de *C. gloeosporioides*, concluíram que extrato de bulbilhos de alho não inibiu a produção de

conídios enquanto que os de folhas de hortelã e de mamona e de frutos de pimenta reduziram a produção de conídios do patógeno. Almeida et al. (2009) verificaram que os extratos de bulbos de alho, arruda, losna foram os mais eficientes na redução da produção de esporos de *Colletotrichum acutatum* e que o extrato proveniente de folhas de fumo apresentou eficiência intermediária.

Tabela 13: Efeito de extratos vegetais e de caldas sobre o crescimento micelial (AACC), germinação, número de tubos germinativos por conídio (NTGE) e número de conídios produzidos por mm² de colônia sobre cinco isolados de *Stemphylium solani*.

Produto	AACC	Germinação %	NTGE	Conídios.mm ⁻²
Água ou meio V8	487,2 c	59,8 a	1,52 abc	1,18 b
Canela	498,4 bc	40,3 de	1,39 cd	1,15 b
Fumo	504,0 ab	46,3 cd	1,45 bc	1,08 b
Pimenta	512,2 a	35,6 e	1,47 bc	1,08 b
Alho	501,2 ab	48,7 bc	1,53 abc	1,08 b
Sulfocálcica emulsão	241,7 d	55,6 a	1,6 ab	2,13 a
Sulfocálcica	127,5 e	54,1 ab	1,68 a	1,09 b
Clorotalonil	123,1 e	7,6 f	1,09 e	na
Bordalesa	0 f	11,1 f	11,18 e	na
Viçosa	0 f	8,5 f	1,22 de	na

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05).
na: não avaliado

Comparando-se o efeito dos produtos sobre todos os isolados, observa-se que as caldas bordalesa e viçosa inibiram totalmente o crescimento micelial, sendo, portanto mais eficientes que o fungicida clorotalonil (Tabela 13). Quanto à germinação e número de tubos germinativos estas caldas apresentaram a mesma eficiência que o fungicida clorotalonil. As caldas sulfocálcica e sulfocálcica emulsão reduziram o crescimento micelial quando comparado com a testemunha meio V8, sendo que a calda sulfocálcica exibiu efeito semelhante ao clorotalonil. Para as demais variáveis, estas caldas não apresentaram nenhum efeito, sendo estatisticamente igual à testemunha água. Os extratos de pimenta, fumo, alho e canela estimularam o crescimento da colônia. De modo geral, todos os extratos reduziram a germinação e número de tubos germinativos emitido por conídio e não afetaram a produção de conídios (Tabela 13).

4.4 Efeito de fungicidas sobre o desenvolvimento de *Stemphylium solani*, *in vitro*.

Observou-se, para todos os isolados testados, efeito significativo de fungicida e da concentração e da interação fungicida x concentração sobre a área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC), sobre a porcentagem de germinação dos conídios e sobre a produção de conídios, exceto isolado SENA 202 para esta última variável onde não se observou efeito da interação (Tabela 14). Em relação ao número de tubos germinativos, observou-se igualmente efeito significativo de fungicida e concentração e da interação fungicida x concentração, exceto para o isolado SENA 101, que respondeu de maneira igual a todos os tratamentos (Tabela 14).

Tabela 14: Análise de variância para efeito de fungicidas, concentração e interação fungicidas x concentração sobre a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACC), germinação de conídios, número de tubos germinativos por conídio germinado e produção de conídios, em porcentagem em relação à testemunha, de cinco isolados de *Stemphylium solani*.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio ¹				
		AACC (% média)				
		SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102
Fatorial	35	42,51*	3743,7*	4218,9*	4163,1*	3910,6*
Fungicida (F)	3	17610,7*	18479,9*	25571,4*	24145,0*	17780,0*
Concentração (C)	8	10267,2*	6122,4*	6013,6*	6518,3*	7345,0*
C x F	24	575,8*	1108,7*	951,6*	880,2*	1032,1*
Erro	144	3,0	5,7	4,7	3,1	6,2
CV%		6,4	11,1	8,5	6,9	11,0
Germinação de conídios (% média)						
Fonte de variação	GL	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102
Fatorial	23	1780,3*	1213,3*	989,6*	125,2*	99573,4*
Fungicida (F)	3	4164,3*	5573,3*	4104,4*	57,2*	141260,8*
Concentração (C)	5	3889,6*	1470,7*	936,9*	397,4*	86991,7*
C x F	15	600,3*	255,5*	384,2*	48,1*	95429,9*
Erro	96	150,6	298,9	61,4	11,3	19,19,1
CV%		22,2	26,6	30,9	19,1	30,6
Número de tubos germinativos por conídio (% média)						
Fonte de variação	GL	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102
Fatorial	23	1242,0*	2281,4*	105,5*	33,1 ^{ns}	4263,2*
Fungicida (F)	3	3221,7*	10069,8*	116,4*	22,8 ^{ns}	7101,3*
Concentração (C)	5	2135,4*	1121,3*	45,9 ^{ns}	38,7 ^{ns}	4240,8*
C x F	15	548,3*	1110,4*	123,2*	33,3 ^{ns}	3703,0*
Erro	96	166,8	94,1	38,0	34,1	146,1
CV%		15,8	12,0	7,0	7,4	10,9
Produção de conídios por placa (% média)						
Fonte de variação	GL	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102
Fatorial	23	43,3*	20,0*	37,2*	15,3*	57,6*
Fungicida (F)	3	179,9*	63,6*	124,7*	64,7*	92,8*
Concentração (C)	5	22,5*	22,7*	36,3*	4,40*	39,1*
C x F	15	22,9*	10,4 ^{ns}	20,0*	9,1*	56,7*
Erro	72	5,24	7,1	5,5	1,9	6,4
CV%		39,1	78,8	42,9	62,3	64,8

¹ Porcentagem em relação testemunha sem adição de fungicida.

* significativo a 5% de probabilidade.

ns: não significativo

De modo geral, o mancozebe proporcionou maior inibição do crescimento micelial de todos os isolados tendo-o suprimido a partir da concentração de 1% da dosagem comercial nos isolados SENA 202, SENA 302, SENA 101, SENA 102 e a partir da concentração de 10% no isolado SENA 310 (Tabelas 15, 17, 19, 21 e 23). O tebuconazole, na concentração de 10%, inibiu o crescimento em mais de 50% dos isolados SENA 202, SENA 302, SENA 101 e SENA 102, e na concentração de 25% do isolado SENA 310, e inibição total do crescimento micelial a partir da concentração de 50% para todos estes isolados. O oxiclreto de cobre somente inibiu o crescimento micelial em mais de 50% a partir da concentração de 25 ou 50% e não chegou a inibir o crescimento dos mesmos isolados nas concentrações mais elevadas. Para alguns isolados como o SENA 202 e SENA 101, a concentração de 1% chegou a estimular o crescimento do micélio. O clorotalonil também não chegou a inibir o crescimento micelial, exceto quando aplicado na concentração de 200% para os isolados SENA 302 e SENA 101 e, em geral, resultou em inibição do crescimento micelial em mais de 50% a partir da concentração de 50%.

Quanto ao efeito dos fungicidas sobre germinação de conídios observou-se que nenhum dos produtos, nas diferentes concentrações testadas, inibiu em 100% a germinação dos conídios dos cinco isolados. Observou-se, ainda, uma grande diferença quanto ao resultado para cada um dos isolados (Tabelas 16, 18, 20, 22 e 24). Os isolados 302 e SENA 101 foram mais sensíveis aos produtos, com uma redução em sua germinação em mais de 50% a partir da concentração de 1%, exceto para o tratamento com oxiclreto de cobre que somente reduziu a germinação do isolado SENA 302 a partir da concentração 75%. Em geral, a partir da concentração de 50% dos quatro produtos, não houve diferença significativa na germinação dos conídios destes dois isolados. O isolado SENA 202 não respondeu à interação produto x concentração, tendo em geral apresentado alta porcentagem de germinação em todos os tratamentos. Em média, a menor germinação foi observada no tratamento com mancozebe (52%) e a maior no tratamento com tebuconazole (83%) (Tabela 18). Os isolados SENA 310 e SENA 102 apresentaram baixa sensibilidade aos quatro produtos. Os conídios do isolado SENA 310, apesar de terem sua germinação reduzida quando submetidos ao tratamento com mancozebe, com germinação menor que 50% a partir da concentração 10%, apresentaram pequenas reduções na germinação com o acréscimo nas concentrações do produto. Os conídios quando submetidos ao clorotalonil somente apresentaram queda na germinação para níveis inferiores a 50% partir da concentração 50% e, quando submetidos ao oxiclreto de cobre e tebuconazole, somente a partir da concentração 75%. De forma geral, maiores porcentagens de germinação foram observadas no tratamento com oxiclreto de cobre, seguido de tebuconazole, clorotalonil e mancozebe.

O isolado SENA 102 que tem como característica a baixa germinação de conídios (11%) apresentou comportamento diferente dos quatro demais e nenhuma ou muito baixa sensibilidade aos produtos testados. O aumento da concentração de mancozebe implicou em redução da germinação, porém, esta se manteve sempre acima de 50% em relação à testemunha. Os três demais produtos estimularam a germinação dos conídios sendo que para o clorotalonil esta chegou a 309% em relação à testemunha na concentração de 1%, com decréscimo neste valor com o aumento da concentração do produto. Para o tebuconazole foi observado acréscimo à germinação na ordem de 463% em relação à testemunha na concentração de 1% com decréscimo nas concentrações seguintes e, para o oxiclreto de cobre foi observado resposta variável com o aumento da concentração, mas com tendência de aumento da germinação com o incremento das concentrações até atingir um valor máximo de 530% na concentração de 75% (Tabela 24).

Em relação ao efeito dos produtos sobre o número de tubos germinativos observou-se também resultado variável conforme o isolado, tendência à redução do número de tubos

com o aumento das concentrações da maioria dos produtos e, em alguns casos, estímulo à emissão de tubos germinativos e, maior efeito de inibição pelo mancozebe. Em nenhum dos tratamentos houve redução do número de tubos para menos que 50% do observado na testemunha. Para o isolado SENA 310, apesar de diferenças significativas entre os produtos nas diferentes concentrações, esta foi pequena e com maior efeito do mancozebe, seguido do clorotalonil e pouco ou nenhum efeito do oxiclreto de cobre, que, pelo contrário estimulou a emissão de tubos com incrementos na concentração e máximo na concentração de 50% da dosagem comercial (Tabela 16). Para o isolado SENA 202, também se observou diferenças significativas entre os produtos nas diferentes concentrações com destaque para o tebuconazole que, em geral, resultou em maior emissão de tubos, e efeito estimulante na concentração de 1% (Tabela 18). Os isolados SENA 302 e SENA 101 se caracterizaram pela redução no número de tubos germinativos por conídio, 80 a 90% para o isolado SENA 302 e de 78% para o isolado SENA 101 e, pequena e nenhuma variação, respectivamente, em função de produto e ou concentração aplicada, indicando baixa sensibilidade aos produtos nas diferentes concentrações testadas (Tabelas 20 e 22). Para o isolado SENA 102, semelhante ao observado para a germinação observou-se estímulo à emissão de tubos germinativos pelas menores concentrações de clorotalonil, oxiclreto de cobre e tebuconazole e leve decréscimo com o aumento das concentrações. A menor emissão de tubos foi observada para o tratamento com mancozebe, porém, sempre na faixa de 90 a 100% do observado na testemunha (Tabela 24).

Para a produção de conídios também foi observado resultado bastante variável para cada um dos isolados testados. Os fungicidas oxiclreto de cobre e tebuconazole foram os que resultaram em maior redução na esporulação do isolado SENA 310 enquanto o mancozebe o que mais estimulou. De forma geral, para os quatro produtos observou-se maior produção de conídios nas concentrações intermediárias, SENA 302 e SENA 101, com destaque para a concentração de 50% de mancozebe que resultou em um número de conídios.mm⁻² 213% superior ao observado na testemunha água (Tabela 16). O isolado SENA 202, ao contrário, mostrou-se sensível aos produtos, tendo apresentado em média redução do número de conídios.mm⁻² com o aumento das concentrações e significativamente menor esporulação no tratamento com mancozebe seguido de tebuconazole. Para este isolado não houve interação significativa entre produto x concentração e a produção média de conídios foi menor que 50% da observada na testemunha meio V8 com destaque para o mancozebe onde este valor chegou a apenas 1,8% (Tabela 18). O isolado SENA 302 por sua vez caracterizou-se pela maior sensibilidade ao oxiclreto de cobre que foi o tratamento que resultou em significativamente menor número de conídios.mm⁻², em quase todas as concentrações testadas. No entanto, de forma geral, todos os tratamentos reduziram a esporulação para valores inferiores a 50% da testemunha, exceto o clorotalonil nas concentrações de 50% e 75% que estimularam sensivelmente a produção de conídios e o mancozebe na concentração de 75% (Tabela 20). O isolado SENA 101 mostrou-se altamente sensível a todos os produtos nas diferentes concentrações, exceto ao tebuconazole na concentração de 25%. Para este tratamento houve produção de conídios equivalente a 80% do registrado na testemunha com decréscimo até 0% na concentração 100%. Para os demais produtos observou-se inibição quase total da esporulação (Tabela 22). A produção de conídios pelo isolado SENA 102 foi quase que totalmente inibida pelo mancozebe, em todas as concentrações testadas. Para os três demais produtos observou-se como tendência aumento da esporulação com o aumento das concentrações seguido de decréscimo. O clorotalonil teve efeito estimulante da esporulação na concentração 10% (175%), o oxiclreto de cobre na concentração 50% (164%) e o tebuconazole na concentração de 25% (168%) (Tabela 24).

Tabela 15: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 310, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).

Produto	Concentração									
	AA CC (% média)									
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	125%	150%	200%	Média
Clorotalonil	77,5 b	67,2 b	52,3 a	42,5 a	37,7 a	29,1 a	24,7 b	21,3 b	19,3 b	41,3 B
Oxicloreto de cobre	101,7 a	92,5 a	46,4 b	33,4 b	31,4 b	30,3 a	28,7 a	27,9 a	27,0 a	46,6 A
Tebuconazole	75,2 b	52,6 c	9,6 c	0,0 c	0,0 c	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 c	15,2 C
Mancozebe	52,5 c	0,0 d	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 c	5,8 D
Média	76,8	53,1	27,1	18,9	17,3	14,8	13,3	12,3	11,6	27,2

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 16: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 310.

Produto	Germinação de conídios (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	68,9 ab	59,1 ab	51,2 b	45,4 b	41,2 a	41,2 a	51,1 B
Oxicloreto de cobre	89,5 ab	81,8 a	81,3 a	82,3 a	44,1 a	38,8 a	69,6 A
Tebuconazole	101,1 a	63,3 ab	49,6 b	50,4 b	44,1 a	40,9 a	58,2 B
Mancozebe	51,22 b	43,8 b	40,4 b	38,8 b	39,1 a	36,9 a	41,7 C
Média	77,6	62,0	55,6	54,2	42,1	39,4	55,2

Produto	Número de tubos germinativos por conídio (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	91,0 ab	77,8 a	73,9 b	78,3 b	74,8 a	75,4 a	78,5 BC
Oxicloreto de cobre	114,7 a	84,0 a	98,6 a	120,6 a	82,7 a	70,4 a	95,2 A
Tebuconazole	116,2 a	75,2 a	73,2 b	74,3 b	83,5 a	71,1 a	82,2 B
Mancozebe	80,1 b	70,9 a	63,5 b	67,5 b	72,5 a	66,9 a	70,3 C
Média	100,5	72,9	77,34	85,20	78,4	70,9	81,5

Produto	Produção de conídios por placa (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	28,6 a	15,2 a	58,8 a	92,0 ab	69,2 a	29,0 b	48,7 B
Oxicloreto de cobre	4,3 a	9,5 a	10,7 b	26,1 bc	1,7 b	18,9 b	11,9 C
Tebuconazole	46,6 a	36,8 a	3,7 b	13,2 c	31,6 ab	6,4 b	23,0 C
Mancozebe	23,6 a	61,8 a	86,0 a	213,8 a	80,1 a	172,7 a	106,3 A
Média	25,7	30,8	39,6	86,3	45,6	56,7	47,5

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 17: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 202, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).

Produto	Concentração									
	AA CC (% média)									
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	125%	150%	200%	Média
Clorotalonil	83,0 b	60,5 b	59,3 a	43,4 a	34,5 a	29,1 a	28,1 a	26,9 a	24,3 a	43,2 A
Oxicloreto de cobre	110,5 a	72,3 a	25,0 b	22,0 b	15,7 b	15,0 b	14,7 b	14,2 b	13,5 b	33,7 B
Tebuconazole	42,1 c	37,6 c	4,2 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	9,3 C
Mancozebe	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 D
Média	58,9	42,6	22,1	16,3	12,5	11,0	10,7	10,2	9,4	21,5

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 18: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 202.

Produto	Germinação de conídios (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil							56,9 BC
Oxicloreto de cobre				ns			67,0 B
Tebuconazole							83,1 A
Mancozebe							52,3 C
Média	78,3	68,0	67,7	61,3	60,5	53,1	64,8

Produto	Número de tubos germinativos por conídio (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	74,9 b	78,4 b	81,1 b	73,8 b	70,6 b	67,4 a	74,3 B
Oxicloreto de cobre	76,1 b	66,0 c	65,9 b	66,1 b	65,7 b	83,2 a	70,5 B
Tebuconazole	152,3 a	94,7 a	129,6 a	87,5 a	104,4 a	76,9 a	107,6 A
Mancozebe	66,8 b	65,5 c	70,0 b	69,0 b	67,3 b	74,3 a	68,8 B
Média	92,5	76,2	86,7	74,1	77,0	75,4	80,3

Produto	Produção de conídios por placa (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil							37,2 A
Oxicloreto de cobre				ns			26,1 AB
Tebuconazole							19,7 BC
Mancozebe							1,8 C
Média	48,6	27,9	28,1	5,5	6,9	6,9	56,0

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

ns: não significativo

Tabela 19: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 302, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).

Produto	Concentração									
	AACC (% média)									
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	125%	150%	200%	Média
Clorotalonil	72,5 c	48,9 b	46,3 b	38,6 b	36,5 b	28,5 b	10,1 b	9,8 b	0,0 b	32,4 B
Oxicloreto de cobre	101,0 a	82,9 a	60,5 a	45,5 a	44,0 a	41,7 a	40,8 a	39,3 a	39,0 a	55,0 A
Tebuconazole	80,4 b	33,2 c	11,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 b	13,8 C
Mancozebe	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 b	0,0 D
Média	63,5	41,3	29,4	21,0	20,1	17,5	12,7	12,3	9,7	25,3

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 20: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 302.

Produto	Germinação de conídios (% média)						Média
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	
Clorotalonil	20,9 b	20,6 b	17,2 b	16,8 b	16,8 a	16,8 a	18,2 B
Oxicloreto de cobre	61,0 a	53,5 a	53,5 a	52,4 a	18,7 a	16,1 a	42,5 A
Tebuconazole	28,8 b	24,3 b	23,2 b	22,8 b	18,7 a	18,3 a	22,7 B
Mancozebe	21,3 b	20,2 b	19,8 b	16,1 b	15,7 a	13,8 a	17,8 B
Média	33,0	29,6	28,4	27,0	17,5	16,3	25,3
Produto	Número de tubos germinativos por conídio (% média)						Média
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	
Clorotalonil	94,4 a	90,2 a	81,3 b	85,2 ab	84,7 a	94,6 a	88,4 A
Oxicloreto de cobre	93,1 a	90,4 a	84,7 ab	94,1 a	92,2 a	85,0 a	89,9 A
Tebuconazole	81,3 b	82,3 a	90,4 a	86,8 ab	85,5 a	89,7 a	86,0 A
Mancozebe	87,6 ab	94,1 a	85,8 ab	81,3 b	83,2 a	83,1 a	85,8 A
Média	89,1	89,2	85,5	86,8	86,4	88,1	87,5
Produto	Produção de conídios por placa (% média)						Média
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	
Clorotalonil	31,2 ab	6,9 b	39,2 a	189,6 a	176,9 a	41,4 a	80,9 A
Oxicloreto de cobre	9,4 b	3,4 b	9,5 a	5,4 b	4,2 b	5,4 b	6,2 C
Tebuconazole	46,5 a	46,8 a	54,9 a	34,7 b	44,3 ab	33,6 a	43,5 AB
Mancozebe	16,6 ab	7,5 b	49,6 a	30,2 b	113,3 ab	8,7 b	37,6 B
Média	25,9	16,1	38,3	64,9	84,7	22,3	42,0

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 21: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 101, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).

Produto	Concentração									Média
	AACC (% média)									
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	125%	150%	200%	
Clorotalonil	88,8 b	71,9 b	49,3 a	39,1 a	35,1 a	27,1 b	25,5 b	20,1 b	0,0 b	39,7 B
Oxicloreto de cobre	102,2 a	77,3 a	45,1 b	41,5 a	37,5 a	37,1 a	36,8 a	36,5 a	36,1 a	50,0 A
Tebuconazole	64,7 c	38,4 c	14,0 c	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 b	13,0 C
Mancozebe	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 c	0,0 b	0,0 D
Média	63,9	46,9	27,1	20,1	18,1	16,0	15,6	14,1	9,0	25,7

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 22: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 101.

Produto	Germinação de conídios (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	27,4 a	22,3 ab	19,3 ab	18,4 a	12,9 a	10,3 a	18,4 A
Oxicloreto de cobre	30,0 a	15,9 b	15,4 b	15,0 a	15,0 a	12,0 a	17,2 AB
Tebuconazole	17,6 b	16,7 b	16,3 ab	15,9 a	14,6 a	13,7 a	15,8 B
Mancozebe	24,4 a	23,6 a	22,3 a	15,0 a	15,0 a	12,8 a	18,8 A
Média	24,8	19,6	18,3	16,1	14,3	12,2	17,9

Produto	Número de tubos germinativos por conídio (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil							76,9 A
Oxicloreto de cobre				ns			78,6 A
Tebuconazole							78,9 A
Mancozebe							78,3 A
Média	79,6	77,4	76,0	78,6	79,6	77,9	78,2

Produto	Produção de conídios por placa (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	0,0 b	0,43 a	0,0 b	0,8 b	0,4 b	3,0 ab	0,8 B
Oxicloreto de cobre	1,3 b	12,4 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	2,8 B
Tebuconazole	38,7 a	36,1 a	82,3 a	10,0 a	19,1 a	0,0 b	31,0 A
Mancozebe	0,0 b	0,4 a	0,0 b	0,87 b	0,0 b	6,5 a	1,3 B
Média	10,0	12,3	20,5	2,9	5,5	2,5	8,9

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 23: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre o crescimento micelial, do isolado SENA 102, representado pela área abaixo da curva de crescimento da colônia (AACC).

Produto	Concentração									Média
	AACC (% média)									
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	125%	150%	200%	
Clorotalonil	85,4 b	60,9 b	41,0 b	33,8 a	27,4 a	24,5 a	20,8 a	18,9 a	17,4 a	36,7 B
Oxicloreto de cobre	104,2 a	89,8 a	52,5 a	35,0 a	26,9 a	19,1 b	18,3 a	15,2 a	14,0 a	41,7 A
Tebuconazole	51,8 c	43,1 c	13,6 c	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 b	0,0 b	0,0 b	12,0 C
Mancozebe	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 D
Média	60,3	48,4	26,7	17,2	13,5	10,9	9,7	8,5	7,8	22,6

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 24: Efeito de produtos nas diferentes concentrações sobre a germinação de conídios, número de tubos germinativos e produção de conídios, do isolado SENA 102.

Produto	Germinação de conídios (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	309,1 b	163,6 a	80,0 a	74,5 b	58,1 b	72,7 bc	126,3 B
Oxicloreto de cobre	83,6 c	450,9 b	120,0 a	109,1 a	530,9 a	87,2 ab	230,3 A
Tebuconazole	463,6 a	80,0 b	78,2 a	87,2 ab	83,6 b	116,3 a	151,5 B
Mancozebe	70,9 c	65,4 b	70,9 a	72,7 b	56,3 b	50,9 c	64,5 C
Média	231,8	190,0	87,2	85,9	182,2	81,8	143,2

Produto	Número de tubos germinativos por conídio (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	134,6 a	103,4 b	92,5 a	93,2 a	89,4 b	93,2 a	101,1 C
Oxicloreto de cobre	105,5 b	193,4 a	102,6 a	98,9 a	192,2 a	99,4 a	132,0 A
Tebuconazole	157,9 a	109,5 b	107,4 a	100,5 a	96,2 b	100,3 a	112,0 B
Mancozebe	99,1 b	103,4 b	89,9 a	98,9 a	101,7 b	94,8 a	98,0 C
Média	124,3	127,4	98,1	97,9	119,8	96,9	110,7

Produto	Produção de conídios por placa (% média)						
	1%	10%	25%	50%	75%	100%	Média
Clorotalonil	32,5 ab	175,1 a	15,3 b	14,6 bc	78,9 a	2,5 a	53,1 A
Oxicloreto de cobre	41,4 a	2,5 b	2,5 b	164,3 a	1,27 b	3,1 a	35,8 A
Tebuconazole	10,2 ab	7,6 b	168,5 a	62,9 ab	5,7 b	0,0 a	42,2 A
Mancozebe	0,0 b	2,5 b	0,0 b	0,0 c	0,0 b	0,0 a	0,4 B
Média	21,0	46,9	43,5	60,4	21,5	1,4	32,9

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

De modo geral, os fungicidas mancozebe e tebuconazole apresentaram características fungistáticas, sendo os mais eficientes no controle do crescimento micelial de todos os isolados testados. Resultado este esperado para o tebuconazole, que por ser um fungicida do grupo dos triazóis atua na formação e seletividade da membrana plasmática, inibindo a síntese de ergosterol, principal lipídio da membrana (Reis et al., 2007). A ausência deste lipídio provoca o colapso da célula e consequentemente interrompe o desenvolvimento do micélio (Kimati, 1995). A maioria dos isolados testados apresentou baixa sensibilidade ao fungicida oxicloreto de cobre, que proporcionou menores níveis de inibição do crescimento micelial e germinação dos conídios. Enquanto o mancozebe, fungicida considerado protetor, foi o mais eficiente na inibição da germinação dos conídios, para a maioria dos isolados avaliados. De acordo com Zambolim & Chaves (1983), os fungicidas protetores previnem a penetração dos fungos por meio da inibição do processo germinativo, fato que explica os resultados encontrados para a germinação dos conídios.

Segundo Tofoli et al. (2003) o menor efeito dos fungicidas inibidores da síntese de ergosterol sobre a germinação de conídios de *Alternaria solani*, não compromete a ação destes produtos, pois penetrações do patógeno podem ser inibidas devido às características sistêmicas e ação curativa destes fungicidas. De acordo com Forcelini, (1994) os fungicidas do grupo dos triazóis podem atuar como protetores ou curativos. No caso de efeito protetor, a ação tóxica é exercida sobre a germinação dos esporos e formação do tubo germinativo. Entretanto, a inibição é apenas parcial, podendo ocorrer a penetração do patógeno. No caso da ação curativa, o efeito tóxico é sobre o desenvolvimento do micélio no interior dos tecidos, que são inibidos pela presença do fungicida.

Os resultados obtidos neste trabalho para os fungicidas mancozebe e tebuconazole estão de acordo com as observações feitas por Rahman et al. (2010), que avaliando a sensibilidade *in vitro* de *Stemphylium botryosum*, agente causal da mancha-de-estenflilio em lentilha, a estes fungicidas nas concentrações de 500 ppm (0,05%), 1000 ppm (0,1%), 1500 ppm (0,15%) e 2000 ppm (0,2%), observaram que o mancozebe e tebuconazole inibiram totalmente o crescimento do micélio, independente da concentração utilizada. Enquanto Hosen et al. (2009), observaram menor inibição do crescimento micelial de *S. botryosum* com o fungicida mancozebe, 50, 55,97, 56,45 e 60,16%, nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 ppm, respectivamente.

Patel et al. (2005) ao estudarem a ação *in vitro* dos fungicidas oxicloreto de cobre e mancozebe nas concentrações de 1000 ppm (0,1%), 2000 ppm (0,2%) e 3000 ppm (0,3%) sobre o crescimento micelial e germinação de *Alternaria tomato*, constataram que o oxicloreto de cobre inibiu totalmente o crescimento micelial em todas as concentrações testadas. Enquanto o fungicida mancozebe inibiu o crescimento de *Alternaria tomato* em 80,5, 86 e 92,1%, nas concentrações de 1000 ppm (0,1%), 2000 ppm (0,02%) e 3000 ppm (0,3%), respectivamente. Nestas mesmas concentrações menor porcentagem de esporos germinados foi observada no tratamento com o fungicida oxicloreto de cobre (7,47, 6,66 e 6%, respectivamente) em comparação com o mancozebe que promoveram 13,59, 10 e 7,92% de inibição.

Jash et al. (2004) com o objetivo de avaliar o efeito *in vitro* de diferentes fungicidas sobre o patógeno *A. zinniae*, verificaram que o mancozebe foi mais eficiente que o oxicloreto de cobre inibindo o crescimento micelial em 63,11 e 77,04%, nas concentrações de 50 (0,005%) e 100 ppm (0,01%), respectivamente. Enquanto nas maiores concentrações, 200 ppm (0,02%), 400 ppm (0,04%) e 500 ppm (0,05%), inibiram totalmente o crescimento do micélio. Já o oxicloreto de cobre promoveu 3,27, 8,19, 16,39, 44,26 e 63,93% de inibição nas concentrações de 50 ppm (0,005%) , 100 ppm (0,01%), 200 ppm (0,02%), 400 ppm (0,04%) e 500 ppm (0,05%), respectivamente.

Arunakumara, (2006) testando o efeito *in vitro* de fungicidas sistêmicos e de contato sobre o crescimento micelial de *Alternaria solani*, verificou que entre os fungicidas de contato avaliados, o oxicloreto de cobre proporcionou maior inibição (79%), seguido pelo mancozebe (63,2%). O clorotalonil estava entre os menos eficientes com 51,81% de inibição. Issiakhem & Bouznad (2010), quando estudou o efeito dos fungicidas difenoconazol e clorotalonil sobre a germinação e crescimento micelial de *Alternaria solani* e *A. alternata*, constatou que na concentração de 1440 ppm (0,144%), o crescimento micelial de *A. solani* foi inibido em 89% e de *A. alternata* em 57%. Quanto ao efeito do clorotalonil sobre a germinação de conídios, os autores observaram que nas concentrações de 2880 ppm (0,228%), 720 ppm (0,072%), 180 ppm (0,018%) e 45 ppm (0,0045%) a porcentagem de inibição foi de 78, 69, 31 e 23%, respectivamente para *A. solani* e 53, 34, 26 e 16% para *A. alternata*.

A ação *in vitro* de vários compostos sobre o crescimento, germinação e esporulação de conídios de vários fungos foi estudada por Mills et al. (2004), onde constatou que para o tratamento com o fungicida mancozebe, a porcentagem de crescimento micelial de *A. alternata* foi de 12%, a produção de conídios 10% e a germinação totalmente inibida. Tofoli et al. (2003) verificaram que o fungicida tebuconazole foi mais eficiente no controle do crescimento micelial de cinco isolados de *A. solani*, em todas as concentrações testadas, 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (0,0001%), 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (0,001%) e 100 (0,01%) $\mu\text{g.mL}^{-1}$, quando comparado com o clorotalonil e mancozebe.

Haddad et al. (2003) ao investigarem o efeito de fungicidas no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola, encontrou resultados similares para o fungicida mancozebe. Estes autores observaram que a porcentagem de conídios germinados, independente da concentração e do isolado utilizado, foi menor nos tratamentos com os fungicidas tiofanato metílico + mancozebe, mancozebe, clorotalonil, benomil + mancozebe, tiofanato metílico + clorotalonil e captan.

As características morfológicas das colônias dos cinco isolados de *Stemphylium solani*, quando submetidos aos tratamentos com os fungicidas, estão ilustradas nas figuras 7, 8, 9, 10 e 11.

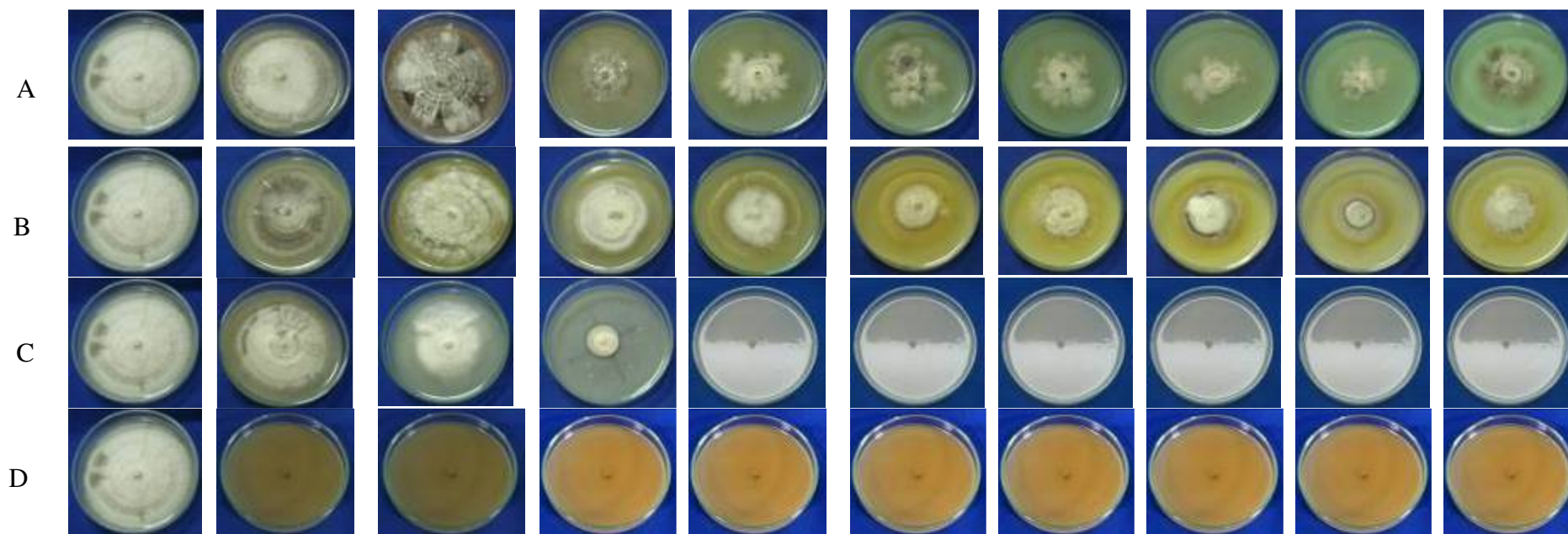


Figura 7: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 310, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxicloreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.

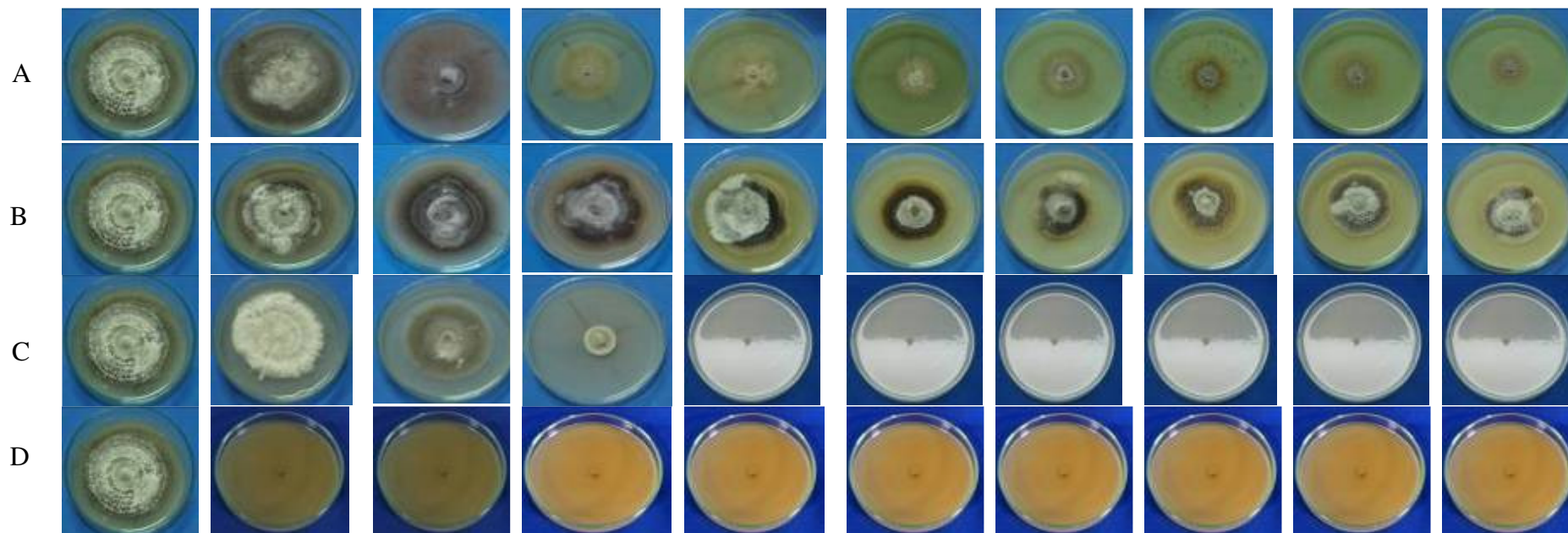


Figura 8: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 202, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.

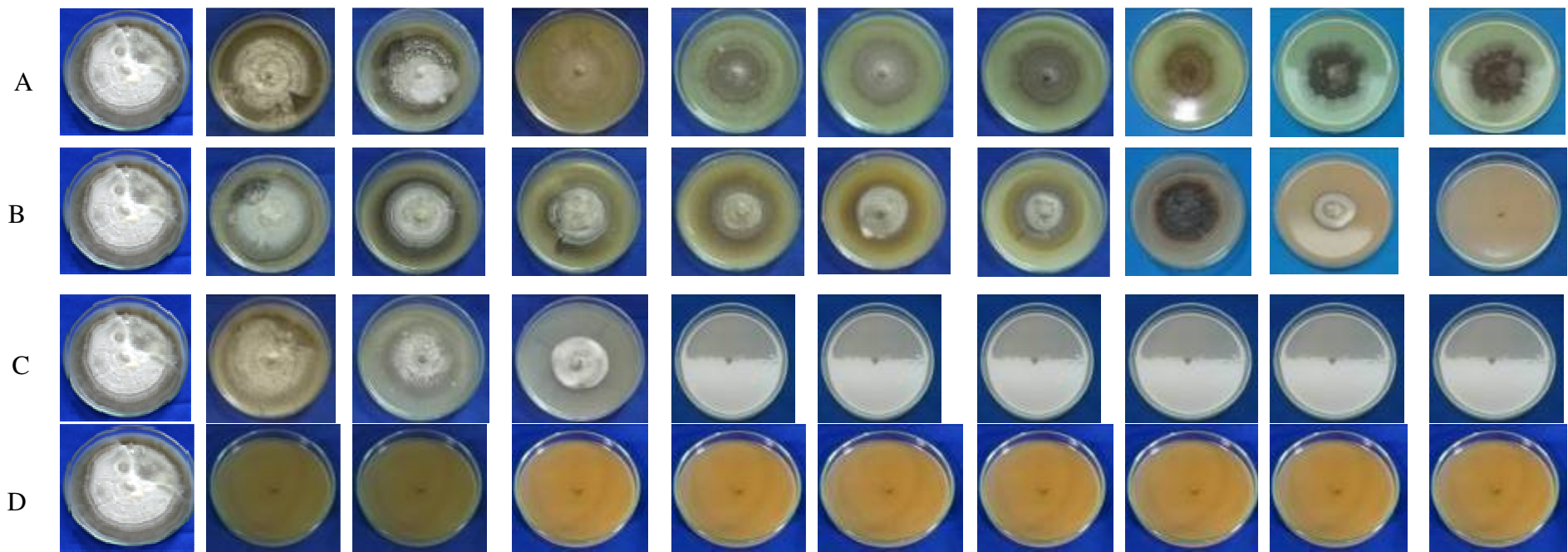


Figura 9: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 302, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxicloreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.

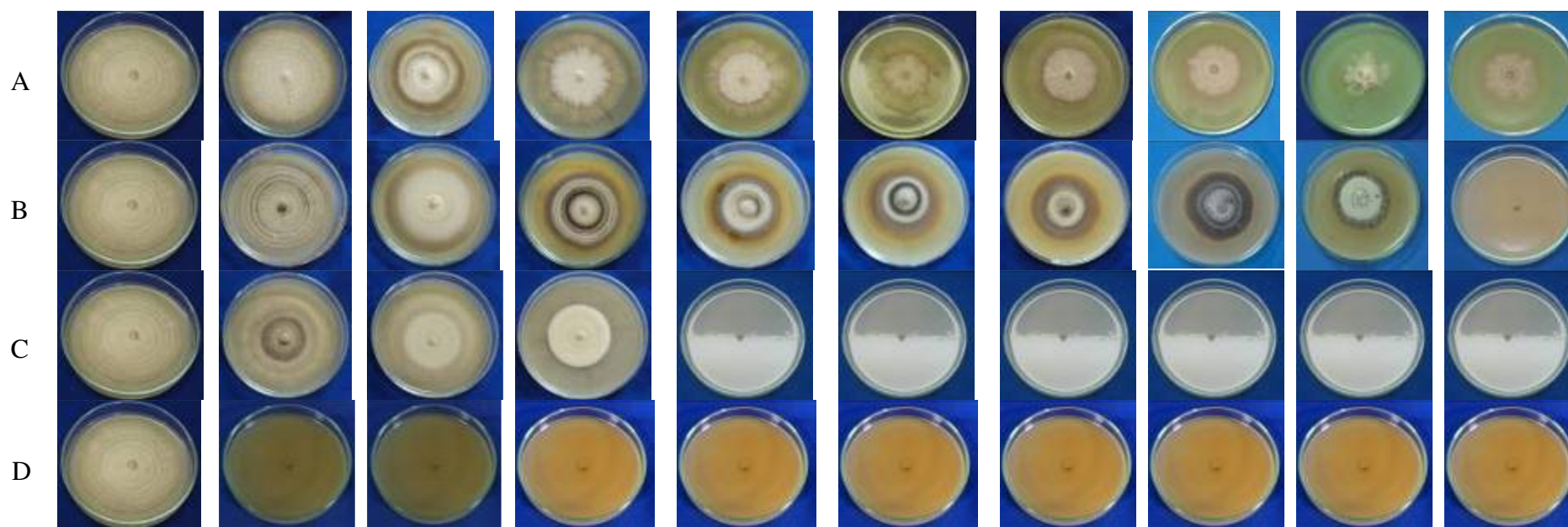


Figura 10: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 101, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.

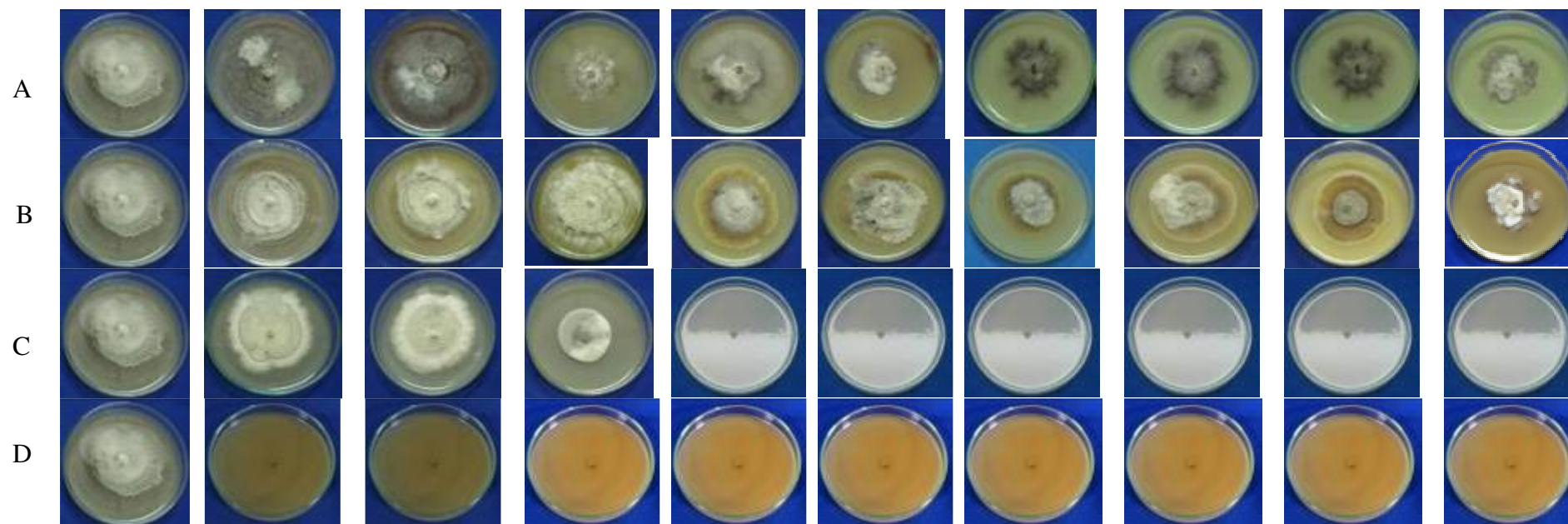


Figura 11: Aspecto, coloração e tamanho das colônias do isolado SENA 102, quando submetidas aos tratamentos com os fungicidas oxiclóreto de cobre (A), clorotalonil (B), tebuconazole (C) e mancozebe (D), nas concentrações de 0%, 1%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, 125%, 150% e 200% (da esquerda para a direita) aos 20 dias após incubação.

5 CONCLUSÕES

Todos os isolados testados pertencem à espécie *Stemphylium solani* e estes apresentam alta variabilidade para características como crescimento da colônia, germinação dos conídios e, principalmente, esporulação, *in vitro*.

Entre as dez cultivares avaliadas, o híbrido Sweet Grape se destacou como o menos suscetível à mancha-de-estenfílio, enquanto os híbridos Serato, Lumi e Carmem como os mais suscetíveis.

Os isolados de *S. solani* variam muito quanto à sensibilidade aos fungicidas comerciais registrados para o controle da doença no tomateiro.

O fungicida mancozebe foi o mais eficiente na redução do crescimento micelial do patógeno, proporcionando inibição total a partir da concentração de 1% da dosagem comercial, seguido do tebuconazole que inibiu totalmente o crescimento a partir da concentração de 50%.

Nenhum dos produtos inibiu em 100% a germinação dos conídios com destaque para o mancozebe que proporcionou maior inibição da germinação. Os isolados apresentaram baixa sensibilidade ao oxiclreto de cobre que foi o menos eficiente na inibição do crescimento micelial e germinação dos conídios.

De modo geral todos os fungicidas testados reduziram a esporulação do patógeno para valores inferiores a 50% da testemunha.

Entre os produtos alternativos, as caldas viçosa e bordalesa foram os mais eficientes na inibição de *S. solani*, enquanto os extratos de alho, pimenta, canela e fumo foram menos eficientes, tendo em alguns casos estimulado o crescimento micelial do patógeno.

A alta incidência de mancha-de-estenfílio no estado do Rio de Janeiro deve-se à suscetibilidade da maioria dos híbridos plantados e a baixa sensibilidade de alguns isolados a fungicidas registrados para o controle da doença.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J.H. Práticas Alternativas de Controle de Pragas e Doenças na Agricultura. Campinas, São Paulo: EMOPI, 1998, 115 p.

ABREU, C.L.M. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas. Botucatu, SP, 2006, 82 p.

ADETUMBI, M.A. & LAU, B.H.S. *Allium sativum* (garlic) - a natural antibiotic. Medical hypotheses, v.12, p. 227-237, 1983.

AGRIOS, G.N. Plant Pathology 5^a edição. Elsevier Academic Press, 2005.

ALMEIDA, T.F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R.C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. Summa Phytopathologica, v.35, n.3, p.196-201, 2009.

ALVARENGA, M.A.R.; TEIXEIRA, A.S.; CHALFUN, N.N.J. Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: UFLA, 2004, 400p.

ANDRUS, C.F.; REYNARD, G.B.; WADE, B.L. Relative resistance of tomato varieties, selections and crosses to defoliation by *Alternaria* and *Stemphylium*. US. Department of Agriculture. Circ 652, 1942, 23p.

ANONYMOUS. Concise Encyclopedia of Plant Pathology. P. Vidyasekaran. Haworth Press, 2004.

AQUINO, L.A.; BERGER, P.G.; RODRIGUES.F.A.; ZAMBOLIM, L.; OGOSHI.F.; MIRANDA, L.M.; LÉLIS.M.M. Controle alternativo da mancha de Ramularia do algodoeiro. Summa Phytopathologica, v.34, n.2, p.131-136, 2008.

ARUNAKUMARA, K.T. Studies on *Alternaria solani* (Ellis and Martin) Jones and Grout causing early blight of tomato. Master of Science (Agriculture). University of Agricultural Sciences, Dharwad, 2006. 70p.

ARUN KUMAR G. S. Studies on leaf blight of Chrysanthemum caused by *Alternaria alternata* (fr.) keissler. Master of Science (Agriculture). University of Agricultural Sciences, Dharwad, 2008, 85p.

AVELING T. A. S. & NAUDE S. P. First report of *Stemphylium vesicarium* on garlic in South Africa. Plant Disease 76: p.426, 1992.

AVELING, T. A. S. & SNYMAN, H.G. Infection studies of *Stemphylium vesicarium* on onion leaves. Mycological Research, 97, p. 984-988, 1993.

AZEVEDO, L.A.S. Fungicidas protetores. Syngenta, São Paulo, 2003, 320p.

BAPTISTA, M.J.; RESENDE, F.V.; OLIVEIRA, A.R. Avaliação de produtos alternativos no manejo da pinta preta do tomateiro. In: Congresso Brasileiro de Agroecologia- Manejo de Agroecossistemas Sustentáveis. Revista Brasileira de Agroecologia, v.2, n.2, 2007.

BASALLOTE-UREBA, M.J.; PRADOS-LIGEIRO, A.M.; PEREZ, ALGABA, A.; MELERO-VARA, J. M. First report in Spain of two leaf spots of garlic caused by *Stemphylium vesicarium*. Plant Disease v.77, p.952, 1993.

BASALLOTE-UREBA, M.J.; PRADOS-LIGERO, A.M.; MELERO-VARA, J.M. Effectiveness of tebuconazole and procymidone in the control of *Stemphylium* leaf spots in garlic. Crop Protection, v.17, p.491- 495, 1998.

BASALLOTTE-UREBA, M.J.; PRADOS-LIGERO, A.M.; MELERO-VARA, J.M. Aetiology of leaf spot of garlic and onion caused by *Stemphylium vesicarium*. Plant Pathol. v.48, p.139-145, 1999.

BASHI, E.; PILOWSKY, M.; ROTEM, J. Resistance in tomatoes to *Stemphylium floridanum* and *S. botryosum* f.sp. *lycopersici*. Phytopathology, v.63, p.1542-1544, 1973.

BEHARE, J.; LATERROT, H.; SARFATTI, M.; ZAMIR, D. Restriction fragment length polymorphism mapping of the *Stemphylium* resistance gene in tomato. Molecular Plant-Microbe Interactions. v.4, n.5, p. 489-492, 1991.

BENTES, J.L.S. & MATSUOKA, K. Histologia da Interação *Stemphylium solani* e tomateiro. Fitopatologia Brasileira, v. 30, n.3, p. 224-231, 2005.

BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, EMBRAPA-CNPDA, 1997, 22p. (Circular Técnica, 02).

BOITEUX, L.S.; HENZ, G.P.; GIORDANO, L.B. *Solanum lycocarpum*: a natural host of *Stemphylium solani*. Plant Disease, v.77, n.8, p.846, 1993.

BOFF, P.; ZAMBOLIM, L.; RIBEIRO DO VALE, F. X. Escalas para avaliação de severidade da mancha-de-estenfílo (*Stemphylium solani*) e da pinta-preta (*Alternaria solani*) em tomateiro. Fitopatologia Brasileira v.16, p.280-283, 1991.

BORGES, O.L.; STANFORD, E.H.; WEBSTER, R.K. The hostpathogen interaction of alfalfa and *Stemphylium botryosum*. Phytopathology, v.66, p.749-753, 1976.

CAMARA, M.P.S.; O'NEILL, N.R.; VAN BERKUM, P. Phylogeny of *Stemphylium* spp. based on ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. Mycologia, v. 94, p.660-672, 2002.

CARVALHO, R.A.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F.; SANTOS, E.S. Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do Inhame (*Dioscorea* sp) no Nordeste. In: II Simpósio Nacional sobre as culturas do Inhame e do Taro, João Pessoa: Emepa, v.1. p.99-112, 2002.

CELOTO, M.I.B. Fisiologia e manejo de *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei, causador da mancha alvo na cultura da acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). Tese de Doutorado, Ilha Solteira: UNESP, 2009, 132p.

COWLING, W.A. & GILCHRIST, D.G. Expression of pathogen virulence and host resistance during infection of alfalfa with *Stemphylium botryosum*. *Phytopathology*, v.72, p.36-42, 1982.

COWLING, W.A.; GILCHRIST, D.G.; GRAHAM, J.H. Biotypes of *Stemphylium botryosum* on alfalfa in North America. *Phytopathology*, v.72, p.679-684, 1982.

CRUZ, T. P.; RABELLO, L.K.C.; GONÇALVES, A.O.; SOUZA, L.S.; SOUZA, A.F. Efeito fungitóxico do extrato de alho, calda bordalesa e flutriafol controle *in vitro* de *Corynespora cassiicola*. In: XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, UNIVAP, São José dos Campos, SP, 2010.

DENNET, R.K. The association of resistance to *Fusarium* wilt and *Stemphylium* leaf spot in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Proc. Amer. Soc. Horticultural Science*, v.56, p.353-357, 1950.

DIAS, L.P.; SOUSA, M.S.B.; MOURA, H.F.N.; CARDOSO, J.R.; NASCIMENTO, V.L.V. Toxicidade do extrato metanólico da canela (*Cinnamomum zeylanicum* blume) contra fungos fitopatogênicos. In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica V CONNEPI, 2010.

DIENER, U.L. Host-penetration and pathological histology in gray leaf spot of tomato. *Phytopathology*, v. 45, p.654-658, 1955.

DOMINGUES, R.J.; DE SOUZA, J.D.F.; TOFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Ação *in vitro* de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.76, n.4, p.643-649, 2009.

ELLIS, M.B. Dematiaceos Hyptomycetes. Editora CAB, England. p. 607-608, 1971.

ELLIS, M.B. & GIBSON, I.A.S. *Stemphylium solani*. CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane. n. 472, 1975, 2p.

ERSKINE, W. & SARKER, A. Lentil: the Bangladesh breakthrough. *ICARDA Caravan*, 6 (6), p.8-10, 1997.

FAO- FAOSTAT, 2009. Disponível em: <http://faostat.fao.org/>. Acesso: janeiro de 2012.

FARIA, T.J.; FERREIRA, R.S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J.R.P.; ISHIKAWA, N.K.; BARBOSA, A.M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v.49, n.6, p.867-871, 2006.

FERNANDES, M.C.A.; LEITE, E.C.B.; MOREIRA, V.E. Defensivos Alternativos. Programa Rio Rural, Niterói, 2008, 17p. (Manual Técnico 1).

- FERREIRA, G.S. Efeito da calda viçosa na nutrição do feijoeiro e no controle da mancha angular. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1998, 49p.
- FIGUEIREDO, M.B. & PIMENTEL, C.P.V. Métodos utilizados para conservação de fungos na Micoteca da Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico. *Summa Phytopathologica*, v.1, n.4, p.299-302, 1975.
- FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3ª edição, Viçosa: UFV, 2005, 412 p.
- FORCELINI, C.A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. Triazoles. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, v.2, p.335-355, 1994.
- FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.25, n.2, p.503-507, 2003.
- FRENCH, R.C. Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores. *Mycologia*, v.84, p.277-288, 1992.
- GIORDANO, L.B.; ARAGÃO, F.A.S.; BOITEUX, L.S. Melhoramento genético do tomateiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.24, n. 219, p.43-57, 2003.
- GONÇALVES, M.M.; GOMES, C.B.; MEDEIROS, C.A.B. Efeito de diferentes caldas e biofertilizantes no controle de requeima (*Phytophthora infestans*) em batata (*Solanum tuberosum*) sob cultivo orgânico. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.2, n.1, 2007.
- GOTO, R. Manejo nutricional no cultivo de hortaliças em estufa. In: Encontro de hortaliças, 9; Encontro de plasticultura da região sul, 6. Maringá. Universidade Estadual de Maringá. p.11-18, 1995.
- GUERRA, M.S. Receituário caseiro: alternativa para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e seus produtos. Brasília: EMATER, 1985, 166p.
- HADDAD, F.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de fungicidas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. *Fitopatologia Brasileira* v.28, p.435-437, 2003.
- HANNON, C.I. & WEBER, G.F. A leaf spot of tomato caused by *Stemphylium floridanum*. *Phytopathology*, v. 45, p.11-16, 1955.
- HARVEY, M.; QUILLEY, S.; BEYNON, H. Exploring the tomato: transformations of nature, society and economy. Cheltenham, UK: Edward Elgar, 2002, 324p.
- HENDRIX, J.W. & FRAZIER, W.A. Studies on the inheritance of stemphylium resistance in tomatoes. Honolulu. University of Hawaii, 1949, 24p. (Technical Bulletin, 8).
- HORTIFRUTI BRASIL. Tomate, um mercado que não pára de crescer globalmente. São Paulo: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, junho, 2007.

HOSEN, M.I.; AHMED, A.U.; ZAMAN, J.; GHOSH, S.; HOSSAIN, K.M.K. Cultural and Physiological Variation Between Isolates of *Stemphylium botryosum* the causal of Stemphylium blight disease of lentil (*Lens culinaris*). World Journal of Agricultural Sciences, v.5, n.1, p. 94-98, 2009.

IBGE. Sistema Brasileiro de Geografia e Estatística – SIDRA, 2009; Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo>. Acesso: maio de 2010.

ISSIAKHEM, F.; BOUZNAD, Z. *In vitro* evaluation of difenoconazole and chlorothalonil on conidial germination and mycelial growth of *Alternaria alternata* and *A. solani* causal agent of early blight in Algeria. PPO-Special Report, n.14, p.297-302, 2010.

JASH, S.; DUTTA, S.; LAHA, S.K. *In vitro* and *in vivo* evaluation of different fungicides against alternaria leaf and flower bught of marigold under terai zone of west bengal. Agricultural Science Digest, v.24, n.4, p.260-263, 2004.

JEGER, M.J. Analysis of disease progress as a basis for evaluating disease management practices. Annual Review of Phytopathology, v.42, p.61-82, 2004.

JONES, J.P. Gray leaf spot. In: JONES, J.B.; JONES, J.P.; STALL, R.E.; ZITTER, T.A. Compendium of tomato diseases. Saint Paul: APS, p.15-16, 1991.

KIM, B.S.; CHO, H.J.; HWANG, H.S.; YU, S.H. Gray leaf spot in peppers caused by *Stemphylium solani* and *S. lycopersici*. Plant Pathology Journal. 20 (2), p.85-91, 2004.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. 3ª edição, São Paulo: Agronomia Ceres, v.1, p.761-785, 1995.

KIRK, M.; CANNON, P.F.; MINTE, D.W.; STALPERS, J.A. Dictionary of the Fungi, Netherlands: CSIRO Publishing, 10, 2008, 784p. Disponível em: CABI databases <http://www.indexfungorum.org>. Acesso: março de 2011.

KRANZ, J. Diseases in tropical crops. In: KRANZ, J.; SCHMUTTERER, H.; KOCH, W. Diseases, pest and weeds in tropical crops. Hamburg, John Wiley & Sons. 1977, 666p.

KROSS, R.K.; CAVALCANTI MARTA, M.E.R.M.; BRAGA, E.M. Influência da epiderme do tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) na transferência de massa durante o tratamento osmótico. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos (SLACA), 4. Campinas, Anais. Campinas: UNICAMP, 2001.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S.L.; GODOY, R.L.O. Óleos essenciais de cascas e folhas de canela (*cinnamomum verum* presl) cultivada no Paraná. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.17, n.3, p.281- 285, 1997.

KUROSAWA, C. & MUSSI, L. Avaliação de resistência em cultivares e híbridos de tomateiro à mancha de estenfílio. Summa Phytopathologica, v.21, p.199-201, 1995.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J. A. M. Manual de fitopatologia vol II: Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 1997, 705 p.

LATERROT, H. Disease resistance in tomato: practical situation. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.22, p.328-331, 2000.

LLORENTE, I. & MONTESINOS, E. Effect of relative humidity and interrupted wetness period of brown spot severity of pear caused by *Stemphylium vesicarium*. *Phytopathology*, v.92, p.99-104, 2002.

LOPES, C. A.; REIS, A.; ÁVILA, A. C. Principais doenças do tomate para mesa causadas por fungos, bactérias e vírus. Informe Agropecuário: Tomate para mesa. Epamig, Belo Horizonte, v.24, n.219, p.66-78, 2003.

LOPES, C.A.; REIS, A.; BOITEUX, L.S. Doenças fúngicas. In: LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. Doenças do tomateiro. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, p.19-51, 2005.

MALUF, W.R. Uso de espécies selvagens no melhoramento do tomateiro. *Horticultura Brasileira* v.31, p.50-51, 1985.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- Agrofit Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: agrofit.agricultura.gov.br/agrofit. Acesso: maio de 2010.

MEHTA, Y.R. Severe outbreak of *Stemphylium* leaf blight, a new disease of cotton in Brazil. *Plant Disease*, v.82, p.333-336, 1998.

MEHTA, Y.R. Genetic diversity among isolates of *Stemphylium solani* from cotton. *Fitopatologia Brasileira*, v.26, p.703-709, 2001.

MEHTA, Y.R. & BROGIN, R.L. Phytotoxicity of a culture filtrate produced by *Stemphylium solani* of cotton. *Plant Disease*, v.84, p.838-842, 2000.

MELO, P.C.T. Melhoramento genético do tomateiro. Asgrow, Campinas, 1989, 55p.

MELLO, S.C.M. Resistência do tomateiro à mancha bacteriana. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Brasília, DF, 1995, 112 p.

MELLO, I. S. & AZEVEDO, J. L. Controle Biológico. Embrapa, v.2, 2000, 387p.

MENDES, M.A.S.; SILVA, V.L.; DIANESE, J.C.; FERREIRA, M.A.S.V.; SANTOS, C.E.N.; GOMES NETO, E.; URBEN, A.F.; CASTRO, C. Fungos em plantas no Brasil, Brasília, DF: Embrapa Cenargen, 1998, 569p.

MENZIES, S.A.; BROADHURST, P.G.; TRIGGS, C.M. *Stemphylium* disease of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) in New Zealand. *N.Z. J. Crop Horticultural Science*, v.20, p.427-433, 1992.

MENEZES, V. O.; PEDROSO, D.C.; DILL, A.M.; SANTOS, R.F. dos; MULLER, J.; JUNGES, E.; MUNIZ, M.; BLUME, E. Uso de Extratos Vegetais *in vivo* no Controle de *Alternaria solani* e na Produtividade do Tomateiro. Revista Brasileira de Agroecologia, v.4 n.2, p.1108-1112, 2009.

MEYER, M.P.; HAUSBECK, M.K.; PODOLSKY, R. Optimal fungicide management of purple spot of asparagus and impact on yield. Plant Disease. v.84, p.525-530, 2000.

MILLS, A.A.S.; PLATT, H.W.; HURTA, R.A.R. Effect of salt compounds on mycelial growth, sporulation and spore germination of various potato pathogens. Postharvest Biology and Technology, v.34, p.341-350, 2004.

MIRANDA, B.E.C; BOITEUX, L.S; REIS, A. Identificação de genótipos do gênero *Solanum* (secção *Lycopersicon*) com resistência a *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*. Horticultura Brasileira, v.28, p.178-184, 2010.

MIZUBUTI, E.S.G. & BROMMONSHENKEL, S.H. Doenças causadas por fungos em tomateiro. Informe Agropecuário v.18, p.7-14, 1996.

MUSSI, L. & KUROZAWA, C. Effect of culture media and illumination regimes on *Stemphylium solani* sporulation. Summa Phytopathologica, v.22, p.19-22, 1996. (Abstract).

NAIKA, S.; JEUDE, J.V.L.; GOFFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B.V. A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização. Agromisa e CTA, Wageningen, 2006, 104p.

NEGRI, G. Controle da podridão parda em pessegueiro conduzido em sistema orgânico e produção do antagonista *Trichothecium roseum*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR. 2007, 147p.

NEUERBURG, W. & PADEL, S. Organisch-biologischer Landbau in der Praxis. Munchen. Verlagsunion Agar, 1992, 311p.

NORONHA, M.A.; MICHEREFF, S.J.; MOREIRA, P.A.A.; XAVIER FILHA, M.S.; SALES JÚNIOR, R.; MIZUBITI, S.G. Variabilidade de isolados de *Myrothecium roridum* provenientes de meloeiro cultivado no Estado do Rio Grande do Norte. Tropical Plant Pathology, v.33, n.6, p.432-438, 2008.

OLIVEIRA, W.F. Herança da resistência em tomateiro à murcha bacteriana. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Brasília, DF. 1997, 136p.

OLIVEIRA, E.A.G. Desenvolvimento de substratos orgânicos, com base na vermicompostagem, para produção de mudas de hortaliças em cultivo protegido. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ. 2011, 77p.

PATEL, N.A.; DANGE, S.R.S.; PATEL, S.I. Efficacy of chemicals in controlling fruit rot of tomato caused by *Alternaria tomato*. Indian Journal of Agricultural Research, v.39, n.1, p.72-75, 2005.

PAULA, R.S. & OLIVEIRA, W.F. Resistência de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) a *Stemphylium solani* Weber. Pesquisa Agropecuária Tropical, v.2, n.31, p.139-145, 2001.

PAULA, R.S. & OLIVEIRA, W.F. Resistência de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) ao patógeno *Alternaria solani*. Pesquisa Agropecuária Tropical, v.2, n.33, p.89-95, 2003.

PAULUS, A.O. & POUND, G.S. Effect of air temperature on initiation and development of gray leaf spot and nailhead spot of tomato. Phytopathology, v.45, p.168-174, 1995.

PEDRINI, S. Apostila de cafeicultura ESACMA - Escola Superior de Agricultura e Ciências de Machado Machado-MG, 2000.

PEDROSO, D.C.; JUNGES, E.; MENEZES, V.; MULLER, J.; GIRARDI, L.B.; TUNES, L.M.; MUNIZ, M.F.B.; DILL, A. Crescimento micelial de *Alternaria solani* na presença de extratos vegetais. Revista Brasileira de Agroecologia. v.4, n. 2, p.4256-4259, 2009.

PENTEADO, S.R. Os inimigos da cultura do pêssego. Grupo técnico viticultura e fruticultura de clima temperado, Campinas, SP. Correio Agrícola, p.488-489, 1998.

PENTEADO S.R. Controle alternativo de pragas e doenças com as caldas bordalesa, sulfocálcica e viçosa. Campinas. Buena Mendes Gráfica e Editora, 2000, 95p.

PERALTA, I.; KNAAP, S.; SPOONER, D.M. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from northern Peru. Systematic Botany, v.30, p.424-434, 2005.

PERES, A.P.; SILVA-MAN, R.; VIEIRA, M.G.G.C.; MACHADO, J.C. Variabilidade morfofocultural e genética de fungos associados à podridão peduncular do mamão. Ciência e Agroecologia, Lavras, v.27, n.5, p.1053-1062, 2003.

POLITO, W. Calda sulfocálcica, bordalesa e viçosa: os fertiprotetores. Agroecologia Hoje, Botucatu, n.5, p.25, 2000.

RAHMAN, T.; AHMED, A.U.; ISLAM, M.R.; HOSEN, M.I. Physiological study and both *in vitro* and *in vivo* antifungal activities against *Stemphylium botryosum* causing *Stemphylium* blight disease in lentil (*Lens culinaris*). Plant Pathology Journal 9, v.4, p.179-187, 2010.

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Mancha-de-estenfílio: ressurgimento de um antigo problema do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 41, 2006, 8p.

REIS, A. & BOITEUX, L.S. Círculo de hospedeiras de isolados de *Stemphylium solani*. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de pesquisa e desenvolvimento 18, 2006a, 13p.

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Resistência de acessos de *Lycopersicon* a *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de pesquisa e desenvolvimento 22, 2006b, 12p.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; FORCELINI, C.A. Manual de fungicidas. Guia para o controle químico de doenças de plantas 5. Editora UPF, 2007, 153p.

RIBEIRO, L.F. & BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. Scientia Agricola, v.56, n.4, p.1267-1271, 1999. Suplemento.

ROCHA, M.C. Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agronômicas, físico-químicas e sensoriais. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2008, 213 p.

RODDICK, J.G. Intracellular distribution of the steroidal glycoalkaloid α -tomatine in *Lycopersicon esculentum* fruit. Phytochemistry, v.15, p.475-477, 1976.

ROTEM, J.; COHEN, Y.; WAHL, I. A new tomato foliage disease in Israel caused by *Stemphylium botryosum*. Canadian Journal of Plant Sciences, Ottawa, v.46, p.265-270, 1966.

SALLAM, N.M.A. Control of tomato early blight disease by certain aqueous plant extracts. Plant Pathology Journal, v.10, n.4, p.187-191, 2011.

SALUSTIANO, M.E.; VALE, F.X.R.do; ZAMBOLIM, L.; FONTES, P.C.R. O manejo da pinta-preta do tomateiro em épocas de temperaturas baixas. Summa Phytopathologica, v.32, n.4, p.353-359, 2006.

SANDROCK, R.W. & VANETTEN, H.D. Fungal Sensitivity to and Enzymatic Degradation of the Phytoanticipin α -Tomatine. Phytopathology, v.88, n.2, 1998.

SANTOS, J.R.M. Levantamento de espécies de *Stemphylium* em tomateiro no Brasil, Fitopatologia Brasileira, v.20, p.354, 1995. Resumo. Suplemento.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; STANGARLIN, J. R; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. Floresta, v.30, n.1/2, p.129-137, 2000.

SCOTT, J W. University of Florida tomato breeding accomplishments and future directions. Soil and Crop Sciences Society of Florida Proceedings, v.58, p.8-11, 1999.

SERRA, I.M.R.S. & SILVA, G.S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no estado do Maranhão. Fitopatologia Brasileira, v.30, p.61-66, 2005.

SHANER, G. & FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slowmildewing resistance in knox wheat. Phytopathology, v.70, p.1183-1186, 1977.

SCHWENGBER, J.E.; SCHIEDECK, G.; GONÇALVES, M, M. Preparo e utilização de caldas nutricionais e protetoras de plantas. Cartilha. Embrapa, Pelotas, 2007, 56 p.

SILVA, J.B.C. & GIORDANO, L.B. Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia - Embrapa Hortaliças, 2000, 168p.

SILVA, J.A.; PEGADO, C.M.A.; RIBEIRO, V.V.; BRITO, N.M.; NASCIMENTO, L.C. Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp *tracheiphilum* em sementes de caupi. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.33, n.2, p.611-616, 2009.

SIMMONS, E. G. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. *Mycologia* v.59, p.67-92, 1967.

SOARES, A. R.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. *Tropical Plant Pathology*, v.33, p.265-272, 2008.

SOUZA, J.L. Agricultura orgânica: tecnologias para produção de alimentos saudáveis. Vitória: EMCAPA, v.1, 1998, 178p.

STRANDBERG, J. O. Spore production and dispersal of *Alternaria dauci*. *Phytopathology*, v.67, p.1262-1266, 1997.

SUHERI, H.; PRICE, T.V. Infection of onion leaves by *Alternaria porri* and *Stemphylium vesicarium* and disease development in controlled environments. *Plant Pathology*, v.49, p.375-382, 2000.

SULEIMAN, M.N. Antifungal properties of leaf extract of neem and tobacco on three fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill). *Advances in Applied Science Research*, n.2, v.4, p.217-220, 2011.

TAIGA, A. & FRIDAY, E. Variations in phytochemical properties of selected fungicidal aqueous extracts of some plant leaves in Kogi State, Nigeria. *American - Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, v.3, n.3, p. 407-409, 2009.

TALAMINI, V. & STADNIK, M.J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: TALAMINI, V. & STADNIK, M. J. Manejo ecológico de doenças de plantas. Florianópolis: CCA/UFSC, p.45-62, 2004.

TAYLOR, I. B. Biosystematics of the tomato. In: ATHERTON, J. G. & RUDICH, J. The tomato crop: a scientific basis for improvement. London, Chapman and Hall. p.1-34, 1986

TOFOLI, J.G.; R.J. DOMINGUES.; C. KUROZAWA. Ação *in vitro* de fungicidas no crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta do tomateiro. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.70, n.3, p.337-345, 2003.

SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Versão 7.1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997, 150p.

VENTUROSOSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A.; SOUZA, F.R. Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, 2011.

VIEGAS, E.C.; SOARES, A.; CARMO, M.G.F.; ROSSETTO, C.A.V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. Horticultura Brasileira, Brasília, v.23, n.4, p.915-919, 2005.

VIEIRA, C.G.; MOREIRA, R.M.; VIÉGA, P.V.S.; SANTOS, G.A.L.; MUZA, D.N. Efeito inibitório *in vitro* de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Fusarium* sp. e *Curvularia* sp. In: XX Congresso de Iniciação Científica/ III Mostra de iniciação Científica. UFPEL, 2011.

WARNOCK, S.J. A review of taxonomy and phylogeny of the genus *Lycopersicon*. Horticultural Science, v.23, n.4, p.669-673, 1988.

WARNOCK, S.J. Tomato evolution and its implications for tomato culture. Horticultural Science, v. 25, n.2, p.139-140, 1990.

WEBER, G.F. Gray leaf spot of tomato caused by *Stemphylium solani*, sp. Phytopathology, v. 20, p.513-518, 1930.

WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; GHAOUTH, A.E.; WINIEWSKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Disease, v.81, p.204-210, 1997.

ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Os defensivos agrícolas, utilização, toxicologia, e legislação específica. Brasília, ABEAS, 1983, 124p.

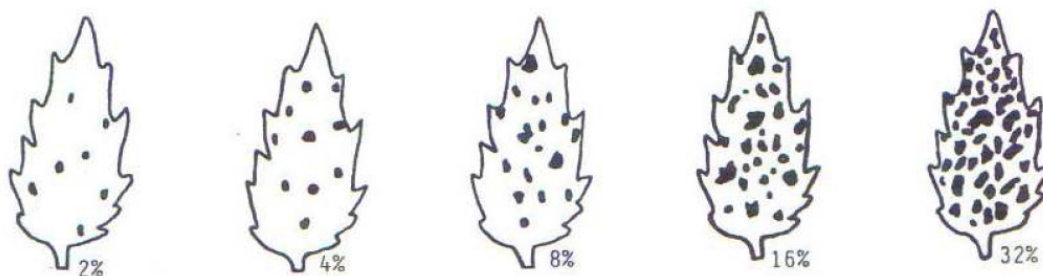
ZAMBOLIM, L.; CRUZ FILHO, J.; VALE, F.X.R.; CHAVES, G.M. Emprego da calda Viçosa na cultura do tomateiro (*Lycopersicum esculentum*) para controle de doenças da parte aérea. Viçosa: UFV, Informe Técnico, 66, 1990, 7 p.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA, H. Controle de Doenças de Plantas Hortaliças: Vicoso, v.2, 2000, 708p.

ZHENG, L.; RUJJING, L.V.; HUANG, J.; LIU, XUHONG.; HSIANG, T. Integrated control of garlic leaf blight caused by *Stemphylium solani* in China. Canadian Journal of Plant Pathology, v.32, n.2, p.135-145, 2010.

7 ANEXOS

ANEXO I



Escala diagramática, apresentando a proporção da área foliar lesionada pela mancha-de-estenfílio, em folíolos de tomateiro com 7 cm^2 (Boff *et al.*, 1991).

ANEXO II

Receita dos meios de cultura utilizados nos ensaios *in vitro*.

Meio de cultura	Receita
AA	17g de ágar e 1,0 L de água
BDA	200g de batata, 20g de dextrose; 20g de ágar; acrescentando água destilada para obtenção de volume final de 1,0 L.
V8	200 ml de suco de vegetais V8; 17g de ágar; 3g CaCO_3 ; 800 mL de água destilada.