

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

TESE

**ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS À
INFECÇÃO DA MANCHA-DE-ESTENFÍLIO EM GENÓTIPOS DE
TOMATEIRO**

LÍGIA SAYKO KOWATA DRESCH

2014



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

**ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS À
INFECÇÃO DA MANCHA-DE-ESTENFÍLIO EM GENÓTIPOS DE
TOMATEIRO**

LÍGIA SAYKO KOWATA DRESCH

Sob a Orientação da Professora
Margarida Gorete Ferreira do Carmo

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no curso de Pós-graduação em Fitotecnia. Área de concentração Manejo integrado de pragas e doenças.

Seropédica, RJ

Junho de 2014

583.952

D773e

T

Dresch, Lígia Sayko Kowata, 1982-
Estudos epidemiológicos e
respostas fisiológicas à infecção
da mancha-de-estenfílio em
genótipos de tomateiro / Lígia
Sayko Kowata Dresch - 2014.
201 f.: il.

Orientador: Margarida Gorete
Ferreira do Carmo.

Tese (doutorado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro,
Curso de Pós-Graduação em
Fitotecnia.

Inclui bibliografias.

1. Tomate - Cultivo - Teses. 2.
Tomate - Doenças e pragas - Teses.
3. *Stemphylium solani* - Teses. 4.
Interação genótipo-ambiente -
Teses. 5. Relação hospedeiro-
parasito - Teses. I. Carmo,
Margarida Gorete Ferreira do, 1963-
. II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Fitotecnia. III.
Título.

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

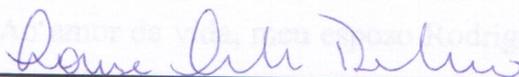
LÍGIA SAYKO KOWATA DRESCH

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**,
no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de concentração Produção Vegetal

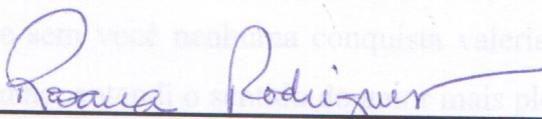
TESE APROVADA EM 05/06/2014



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



Louise Larissa May De Mio, Dr^a. (UFPR)



Rosana Rodrigues, Dr^a. (UENF)



Mauricio Ballesteiro Pereira, Dr. (UFRRJ)



Cibelle Vilela Andrade Fiorini, Dr^a. (UFRRJ)

Aos meus pais Elza e Jorge que me deram a luz e me guiaram por ela.
Aos meus irmãos Mariana e André por todo amor e carinho mesmo a distância. Para minha família, meu porto seguro em todos os momentos de minha vida; se ousei sonhar e voar foi porque sempre tive quem me desse o impulso e amparasse, quando preciso.

OFEREÇO

Ao amor da vida, meu esposo Rodrigo, por todo carinho e incentivo ao trilhar novos caminhos, sempre respeitando meus sonhos e objetivos.
Ao meu filho amado Enzo, que iluminou minha vida com sua chegada, e sem você nenhuma conquista valeria a pena. Somente ao me tornar mãe; entendi o sentido do amor mais pleno e profundo, e ao formar uma família, a verdadeira felicidade.

DEDICO

A todos com muito amor

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por me guiar nas incertezas e por ter colocado pessoas tão especiais em minha vida;

À CAPES, pela bolsa concedida;

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, ao Instituto de Agronomia, e ao curso de Pós-graduação em Fitotecnia, pela oportunidade concedida, bem como as instalações cedidas para o desenvolvimento de meu estudo;

À professora Margarida Goréte Ferreira do Carmo, pela confiança em mim depositada e orientação do meu trabalho. Seus conselhos sobre a inexplorada fase da maternidade também foram muito importantes. Obrigada por todo seu carinho, nos adotando como filhos;

Aos meus avós e toda a minha família pelo incentivo que apesar de distantes, sempre estiveram presentes em minha vida;

Aos amigos Débora Alves Gonzaga da Silva, Dauciléia de Paula Domingues, Suelen Silva de Lima, Giovanna Eika de Falchi Kawamura, Aline da Silva Bhering, Maurílio Lopes Araujo, Jessica Coelho Melo, Fernanda Corrêa de Souza, Cristiana Maia de Oliveira, Monique Garcia Spilari, Carlos Antonio dos Santos, André de Souza, Hanny Heni Slany Pereira, Daniela Gomes e Eliete Nazaré Eduardo pela amizade que suavizou as dificuldades nos experimentos. Fico muito feliz por vocês terem feito parte da minha vida, e considerar o “pessoal” do laboratório como uma segunda família;

À “minha” estagiária Carolzinha (Carolina Araújo Reis), que além de ser meu braço direito durante todo o doutorado, tenho um grande carinho e desejo um caminho iluminado para você;

Ao prof. Aldir Oliveira de Carvalho (*in memoriam*) pelo apoio nos trabalhos iniciais com o *Stemphylium* e por todas as críticas que ajudaram a moldar o caráter profissional;

Aos funcionários do “campo” por toda a ajuda cedida nos ensaios e ao colega Evandro Silva Pereira Costa pela orientação e auxílio, principalmente no sistema de irrigação;

Aos professores do programa de pós-graduação pelos ensinamentos;

Às secretárias Tatiane Dantas Garcez e Eliane Monsores sempre prestativas;

Aos pesquisadores da PESAGRO-RIO Maria do Carmo e Luiz Aguiar, e a laboratorista Beth por toda ajuda e pelo empréstimo de aparelhos;

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

*“... Onde está o arvoredos? Desapareceu.
Onde está a águia? Desapareceu.
É o final da vida e o início da sobrevivência.”*

Noah Sealh, 1854 (Chefe Seattle).

BIOGRAFIA

Nascida em Ponta Grossa no Estado do Paraná, em 13 de outubro de 1982, filha de Jorge Setsuo Kowata e Elza Aparecida Serenato. Em 2000 concluiu o Ensino do 2º grau técnico em Alimentos no Centro Federal de Educação Tecnológica (CEFET) do Paraná, Ponta Grossa. No ano de 2001, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), e diplomou-se no ano de 2005. No período de 2006 a 2007, trabalhou na assistência técnica do projeto de Produção Integrada de Pêssego (PIP) no Paraná. No ano de 2008 iniciou o Curso de Pós-Graduação em Produção vegetal (UFPR) desenvolvendo sua dissertação de mestrado intitulada “Avaliação da Produção Integrada de Pêssegos no Paraná e do progresso da ferrugem em diferentes sistemas de manejo”, sob a orientação da professora Dr^a Louise Larissa May De Mio e co-orientação da professora Lilian Amorim (Esalq). Em 2010, egressou no curso de pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob orientação da professora Dr^a Margarida Gorete Ferreira do Carmo.

RESUMO GERAL

KOWATA-DRESCH, Lígia Sayko. **Estudos epidemiológicos e respostas fisiológicas à infecção da mancha-de-estenfílio em genótipos de tomateiro**. Seropédica: UFRRJ, 2014. 201p. (Tese, Doutorado em Agronomia, Fitotecnia).

Com o aumento da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em lavouras de tomate (*Solanum lycopersicum*) no Brasil há a necessidade de se intensificar os estudos visando desenvolver metodologias adequadas de avaliação, quantificar a resposta de diferentes genótipos à infecção pelo patógeno e o efeito do ambiente no desenvolvimento da doença. Para tanto, desenvolveu-se o presente trabalho que pode ser dividido em quatro Capítulos: I) avaliaram-se as condições ótimas de temperatura (10; 15; 20; 25; 28; 30 e 35°C), período de molhamento (2; 4; 6; 8; 12; 16; 20 e 24 horas) e fotoperíodo (0; 6; 12; 18 e 24 horas de escuro) para a germinação dos conídios e emissão e crescimento do tubos germinativos e para o crescimento micelial do patógeno, *in vitro*, e para esporulação. Foram obtidas informações para produção de conídios *in vitro*; II) determinou-se o efeito da temperatura (15; 20; 25; 28 e 30°C), do período de molhamento foliar (2; 6; 16; 24 e 48 horas) e da concentração de conídios (1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹) na infecção de *S. solani* em plantas de ‘Perinha Água Branca’ (suscetível) e ‘Mascot’ (resistente), bem como a resposta do hospedeiro em diferentes fases de desenvolvimento; III) avaliou-se a resposta de 55 genótipos de tomateiro em três estádios de desenvolvimento à infecção de *S. Solani*; IV) avaliou-se o progresso da doença em genótipos pré-selecionados e o efeito da doença na produção. Os resultados obtidos nos quatro diferentes capítulos são a seguir descritos. Capítulo I) A máxima germinação foi obtida a 23,0° C (SENA302) e 24,5°C (SENA101); a maior emissão de tubos germinativos foi obtida a 23,5° C (SENA302) e 26,5°C (SENA101) e o maior comprimento a 23,5°C; o maior crescimento micelial foi registrado a 24,4°C (SENA302) e 25,6°C (SENA101) e maior esporulação a 15,6° C (SENA302) e 18°C (SENA101), ambos com 15,84 horas de escuro. O período de 16 horas de molhamento foi o mais favorável para o processo germinativo e seis horas de molhamento foi o suficiente para 50% de germinação. O número e comprimento dos tubos germinativos aumentaram com a exposição ao escuro. Para a produção de conídios recomendam-se temperaturas de 25 e 15°C, alternância de luminosidade. Capítulo II) Para a avaliação da mancha-de-estenfílio em condições controladas recomenda-se o uso de temperaturas alternadas de 25 (dia) e 15°C (noite), 24 horas de molhamento e suspensão à 1×10^4 conídios mL⁻¹. A severidade foi maior em folhas mais velhas, este efeito acentua-se com o desenvolvimento da planta. Capítulo III) Plantas adultas foram mais suscetíveis à doença e com base nestas avaliações foram selecionados os acessos ENAS 1136 e ENAS 1143 como testemunhas suscetíveis e ENAS 1012, ENAS 1031, ENAS 1060 ENAS 1216, ENAS 1217 e ENAS 1223 para os ensaios em campo. Capítulo IV) Indica-se o ENAS 1217 para programas futuros de melhoramento. Recomenda-se avaliar a severidade entre a quarta e a décima folha, perto dos 60 dias após o transplante.

Palavras-chaves: *Stemphylium solani*; *Solanum lycopersicum*; condição ambiental; suscetibilidade.

GERAL ABSTRACT

KOWATA-DRESCH, Lígia Sayko. **Epidemiological studies and physiological responses to gray leaf spot infection in tomato genotypes**. Seropédica: UFRRJ, 2014. 201p. (Thesis, Doctor in Agronomy, Crop production).

With the increase of gray leaf spot (*Stemphylium solani*) in tomato (*Solanum lycopersicum*) crops in Brazil is necessary to intensify the studies in order to develop appropriate evaluation methodologies; quantify the response of different genotypes to infection by the pathogen and the effect of environment on development of the disease. Therefore, was developed this work, which can be divided into four chapters: I) were evaluated the optimal conditions of temperature (10, 15, 20, 25, 28, 30 and 35 ° C), wetness period (2; 4; 6; 8; 12; 16; 20 and 24 hours) and photoperiod (0, 6, 12, 18 and 24 hours of darkness) for germination, emission and growth tubes; for mycelial growth of the pathogen *in vitro* and sporulation. Information for the production of conidia *in vitro* was obtained; II) the effect of temperature (15, 20, 25, 28 and 30°C), leaf wetness period (2; 6; 16; 24 and 48 hours) and the concentration of conidia (1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 and 1×10^5 conidia mL⁻¹) was determined in infection of *S. solani* on plants of 'Perinha Água Branca' (susceptible) and 'Mascot' (resistant), as well as, the host response at different stages of development. The pathogen's ability to infect tomato fruit was tested and a protocol for disease evaluation under controlled conditions was obtained; III) the response of 55 tomato genotypes, in three developmental stages, was evaluated to *S. solani* infection; IV) the disease progress was evaluated in a pre-selected genotypes and the effect of disease on production was studied. The results obtained in four different chapters are described below. Chapter I) Maximum germination was obtained at 23 (SENA302) and 24.5°C (SENA101); the higher emission of germ tube was obtained at 23.5 (SENA302) and 26.5°C (SENA101); the higher growth tube at 23.5°C; higher mycelial growth at 24.4 (SENA302) and 25.6°C (SENA101) and higher sporulation at 15.6 (SENA302) and 18°C (SENA101), both with 15.84 hours dark. The most favorable for germinative process was 16 hours of wetness period and six hours of wetting were enough to 50% of germination. The number and growth of germ tubes increased with exposure to dark. For conidia production is recommended the temperatures of 25 and 15°C and conditions of alternated light. Chapter II) For the gray leaf spot evaluation under controlled conditions is recommended the use of alternating temperatures of 25 (day) and 15°C (night); 24 hours of wetness and suspension at 1×10^4 conidia mL⁻¹. Disease severity was greater in older leaves, this effect is increased with the plant development. Chapter III) Adult plants were more susceptible to disease and according these evaluations were selected up accesses ENAS 1136 and ENAS 1143 as susceptible control and ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1217 and ENAS 1223 for field trials. Chapter IV) it is indicated the ENAS 1217 for future breeding programs. It is recommended to evaluate the gray leaf spot severity between the fourth and the tenth leaf, close to 60 days after transplant.

Key-words: *Stemphylium solani*; *Solanum lycopersicum*; environmental conditions; susceptibility.

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1. Análise de variância para efeito da temperatura (T), período de molhamento (PM), isolado (IS) e fotoperíodo (F) no processo germinativo de *Stemphylium solani* (isolado SENA302 e SENA101). 35
- Tabela 2. Equações estimadas para ajuste dos dados do processo germinativo dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA101) em função da temperatura e período de molhamento (ensaio 1), do período de molhamento (ensaio 2) e fotoperíodo (ensaio 3), e do crescimento micelial e da esporulação em função da temperatura e fotoperíodo (ensaio 4) e respectivos pontos de máxima. 37
- Tabela 3. Análise de variância para efeito da temperatura (T), isolado (IS) e fotoperíodo (F), sobre o crescimento micelial, expresso pela área abaixo da curva do crescimento da colônia (AACCM) e produção de conídios (ESP), in vitro de dois isolados *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA101). 43

CAPÍTULO II

- Tabela 4. Análise de variância referente a mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302), expressa pela Área Abaixo da Curva de progresso da Doença, em cotilédones de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Plântulas inoculadas com 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014. 64
- Tabela 5. Análise de Regressão referente ao número de cotilédones infectados por *Stemphylium solani* (isolado SENA302) dos genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) Serato e Dominador, mantidos em tubos de ensaio e inoculados nas concentrações 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014. 65
- Tabela 6. Análise de variância referente à infecção em folhas destacadas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’, pelo isolado SENA302 de *Stemphylium solani* nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} 67
- Tabela 7. Análise de variância referente à infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’, cultivadas em bandejas, inoculadas nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} , e submetidas com 12, 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica – RJ, 2014. 69
- Tabela 8. Análise de variância referente à infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’, cultivadas em copos plásticos. Plantas inoculadas nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} e submetidas a 12, 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica – RJ, 2014. 71
- Tabela 9. Análise de variância de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), dos genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, infectadas por *Stemphylium solani* (isolado SENA302) e mantidas nas temperaturas contínuas de 15, 20, 25, 28 e 30°C e alternada de 25 e 15°C (diurno e noturno). Seropédica-RJ, Brasil, 2014 74
- Tabela 10. Análise de Regressão referente à infecção em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, pelo isolado SENA302 de *Stemphylium solani*, mantidas nas temperaturas contínuas de 15; 20; 25; 28 e 30°C. Seropédica-RJ, Brasil, 2014 76
- Tabela 11. Análise de variância de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), dos genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, infectadas por *Stemphylium solani* (isolado

SENA302) e mantidas na temperatura contínua de 25°C e alternada de 25 (diurno)/15°C (noturno). Seropédica-RJ, Brasil, 2014	77
Tabela 12. Mancha-de-estenfilio em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), dos genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, mantidas na temperatura contínua de 25°C e alternada de 25 (diurno)/15°C (noturno). Seropédica-RJ, Brasil, 2014 ^x	79
Tabela 13. Análise de variância referente progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>). Plantas submetidas a condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), fotoperíodo de 12 horas nos períodos de duas; seis; 16; 24 e 48 horas de molhamento (PM). Seropédica-RJ, Brasil, 2014	80
Tabela 14. Análise de Regressão referente à infecção em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, pelo isolado SENA302 de <i>Stemphylium solani</i> , submetidas aos períodos de dois; seis; 16; 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica-RJ, Brasil, 2014	82
Tabela 15. Análise de variância referente progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculadas com 5×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL ⁻¹ e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014	84
Tabela 16. Análise de regressão referente progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculadas com 5×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL ⁻¹ e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014	85
Tabela 17. Análise de variância referente progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculadas com 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL ⁻¹ e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014	87
Tabela 18. Análise de regressão referente progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculadas com 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL ⁻¹ e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014	88
Tabela 19. Análise de variância de frutos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) ‘Perinha Água Branca’ inoculados com diferentes concentrações de suspensão de <i>Stemphylium solani</i> (isolado SENA302) Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	90
Tabela 20. Análise de regressão referente progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em frutos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) ‘Perinha Água Branca’, inoculados com 1×10^3 , 1×10^4 e 1×10^5 conídios mL ⁻¹ . Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	91
Tabela 21. Análise de variância do progresso mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’, inoculadas com quatro, oito e 16 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	93
Tabela 22. Progresso da mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i>) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’, inoculados com 4, 8 e 16 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014 ^x	94
Tabela 23. Análise de variância do progresso mancha-de-estenfilio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), ‘Perinha Água	

Branca' e 'Mascot', inoculados com quatro, oito e 16 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	94
Tabela 24. Progresso da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>) em plantas de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), 'Perinha Água Branca' e 'Mascot', inoculados com 4, 8 e 16 folhas verdadeiras (Fl). Seropédica-RJ, Brasil, 2014 ^x	96
Tabela 25. Análise de variância da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302), expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) da cultivar 'Perinha Água Branca' e do híbrido 'Mascot', plantas com três, 14 e 19 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014	98
Tabela 26. Progresso da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>) em tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) da cultivar 'Perinha Água Branca' e do híbrido 'Mascot', plantas com três, 14 e 19 folhas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	98
Tabela 27. Análise de variância da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i> – isolado SENA302), expresso pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) da cultivar 'Perinha Água Branca' e do híbrido 'Mascot', em plantas três, 14 e 19 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.	99
Tabela 28. Progresso da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>) em tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) da cultivar 'Perinha Água Branca' e do híbrido 'Mascot', plantas com três, 14 e 19 folhas expandidas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	100

CAPÍTULO III

Tabela 29. Genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) testados quanto à suscetibilidade a mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>), em condições de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	110
Tabela 30. Análise de variância para efeito de genótipo na Área Abaixo da Curva de Progresso da mancha-de-estenfílio em 55 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculados com o isolado SENA 302 de <i>Stemphylium solani</i> , em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	113
Tabela 31. Mancha-de-estenfílio em 55 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculados com o isolado SENA 302 de <i>Stemphylium solani</i> , em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	114
Tabela 32. Análise de variância para efeito de genótipo em diferentes datas de avaliação da severidade da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>), durante três estádios de desenvolvimento de 55 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	117
Tabela 33. Severidade média estimada da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>) em três estádios de desenvolvimento (21 a 56; 56 a 81 e 108 a 118 dias após a semeadura) de 55 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	118
Tabela 34. Análise de variância para efeito de genótipo no período de incubação e latente e do progresso da mancha-de-estenfílio em oito acessos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculados com o isolado SENA 302 de <i>Stemphylium solani</i> , avaliados em câmara de crescimento (25°C diurno e 15°C noturno, com 12 horas de fotoperíodo). Seropédica-RJ, Brasil, 2014.....	121
Tabela 35. Período de incubação e latente e o progresso da severidade mancha-de-estenfílio em oito genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>) inoculados com o isolado SENA 302 de <i>Stemphylium solani</i> , em câmara de crescimento (25°C diurno e 15°C noturno, com 12 horas de fotoperíodo). Seropédica-RJ, Brasil, 2014 ^x	122

CAPÍTULO IV

- Tabela 36. Genótipos testados quanto a suscetibilidade a mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), em condições de campo. Seropédica-RJ, Brasil, 2014..... 130
- Tabela 37. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença, segundo a posição da folha em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, 2014^x 132
- Tabela 38. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença obtida pela severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), segundo a posição da folha (contadas do ápice para a base) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 133
- Tabela 39. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio, expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) relativizada pela duração da epidemia, segundo a posição da folha em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 135
- Tabela 40. Progresso da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), expresso por Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) relativizada pela duração da epidemia, segundo a posição de 10 folhas (contadas do ápice para a base), em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 136
- Tabela 41. Análise de variância da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) relativizada pela duração da epidemia da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) e produção de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 137
- Tabela 42. Progresso da mancha-de-estenfílio, expresso por Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) – relativizada pela duração da epidemia e dados da produção (massa em grama e número de frutos por planta) de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), inoculados com o isolado SENA 302 de *Stemphylium solani*, em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 138
- Tabela 43. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 138
- Tabela 44. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 139
- Tabela 45. Número de frutos com defeitos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014 141
- Tabela 46. Modelagem epidemiológica com a severidade média da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica-RJ, 2014..... 144
- Tabela 47. Modelagem epidemiológica com a severidade máxima da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica-RJ, 2014..... 146
- Tabela 48. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) em diferentes datas de avaliação, em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x 149

Tabela 49. Severidade (%) da mancha-de-estenfílio (<i>Stemphylium solani</i>) em 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em diferentes datas de avaliação, em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014 ^x	149
Tabela 50. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio em 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014 ^x	150
Tabela 51. Severidade (%) da mancha-de-estenfílio em 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014 ^x	150
Tabela 52. Análise de variância da Produção total e comercial de 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014 ^x	151
Tabela 53. Produção total e comercial de 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014 ^x	152
Tabela 54. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014 ^x	152
Tabela 55. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014 ^x	154
Tabela 56. Número de frutos com defeitos de 10 genótipos de tomateiro (<i>Solanum lycopersicum</i>), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014	154

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1. Efeito da temperatura (°C) e do período de molhamento (horas) na germinação (%) (A e B), número (C e D) e comprimento (E) de tubo germinativo de dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA101), mantidos no escuro. 36
- Figura 2. Efeito do período de molhamento sobre germinação (%) (A), número (B e C) e comprimento de tubo germinativo (D) de dois isolados de *Stemphylium solani*, mantidos a 25°C contínuo, no escuro. 40
- Figura 3. Efeito do fotoperíodo sobre o comprimento (A) e número de tubo germinativo (B e C) de dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA 101), mantidos a 25°C contínuo e seis horas de molhamento. 42
- Figura 4. Efeito da temperatura e fotoperíodo no crescimento da colônia, expresso pela área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) (A e B) e esporulação (C e D), expressa pelo número de conídios mm⁻² da colônia de dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA 302 e SENA 101). 44

CAPÍTULO II

- Figura 5. Mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em plântulas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) Serato (□) e Dominador (■), mantidas em tubos de ensaio (A e B) e em caixas gerbox (C e D) e inoculadas nas concentrações 1x10³; 1x10⁴; 5x10⁴ e 1x10⁵ conídios mL⁻¹. Seropédica-RJ, Brasil, 2014. 66
- Figura 6. Folhas destacadas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’ (▲), inoculadas com o isolado SENA302 nas concentrações de 1x10³; 1x10⁴; 5x10⁴ e 10⁵ conídios mL⁻¹. Seropédica – RJ, 2014. 67
- Figura 7. Infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Débora Plus’ (■) e ‘Santa Clara’ (□), cultivadas em bandejas e inoculadas nas concentrações de 1x10³; 1x10⁴; 5x10⁴ e 1x10⁵ conídios mL⁻¹ com três períodos de molhamento. AACPS.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade. AACCL.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Lesão. Seropédica – RJ, 2014. . 70
- Figura 8. Mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* - isolado SENA302), expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade (AACPS), em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ (□) e ‘Débora Plus’ (■), cultivadas em copos plástico e inoculadas nas concentrações de 1x10³; 1x10⁴; 5x10⁴ e 1x10⁵ conídios mL⁻¹ com três períodos de molhamento. Seropédica – RJ, 2014. 72
- Figura 9. Dados climáticos de temperatura (A e C) e umidade relativa (B e D), da casa-de-vegetação, no período de 14 a 24 de agosto (linha superior) e 10 a 23 de outubro (linha inferior) de 2012. Seropédica-RJ. 73
- Figura 10. Área Abaixo da Curva de progresso da Lesão (AACPL – A e B) e da Severidade (AACPS – C e D), e período de incubação (E) e latente (F) de plantas de ‘Perinha Água Branca’ (■) e ‘Mascot’ (□) inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) e mantidas nas temperaturas de 15; 20; 25; 28 e 30°C. Seropédica-RJ, 2014. 75
- Figura 11. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), ‘Perinha Água Branca’ (■) e ‘Mascot’ (□), inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302 de), e submetidas aos períodos de dois; seis; 16; 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica-RJ, Brasil, 2014. 83
- Figura 12. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar ‘Perinha Água Branca’ (□) e ‘Mascot’ (■), inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 5x10², 5x10³, 1x10⁴ e 5x10⁴ conídios mL⁻¹. Seropédica-RJ, Brasil, 2014. 86

- Figura 13. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar ‘Perinha Água Branca’ (□) e ‘Mascot’ (■), inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014..... 89
- Figura 14. Frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar ‘Perinha Água Branca’, inoculados com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 1×10^3 , 1×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014. 92
- Figura 15. Ensaio com inoculação de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da cultivar ‘Perinha Água Branca’. Fruto com ferimento inoculado com água (A) e visão aproximada (C). Fruto com ferimento e inoculado com suspensão do tecido lesionado (E), com esporulação (F). Seropédica-RJ, Brasil, 2014..... 92
- Figura 16. Dados climáticos de temperatura (A) e umidade relativa (B, da casa-de-vegetação, no período de 04 de agosto a 14 de outubro de 2013. Seropédica-RJ. 97

CAPÍTULO III

- Figura 17. Variações de temperatura e umidade relativa na casa-de-vegetação durante a realização das três séries de avaliações dos genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica-RJ, 2014. 120

CAPÍTULO IV

- Figura 18. Dados Climáticos obtidos da estação metereológica do INMET localizada no município de Seropédica-RJ, durante o cultivo da safra outono/inverno 2014.... 142
- Figura 19. Severidade média (índice) da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), Seropédica-RJ, 2014. 145
- Figura 20. Severidade máxima (índice) da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), Seropédica-RJ, 2014.. 147
- Figura 21. Dados Climáticos obtidos da estação metereológica do INMET localizada no município de Seropédica-RJ, durante o cultivo da safra primavera/verão 2014.. 151

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

√ - raiz quadrada
% - porcentagem
@ - arroba
® - marca registrada
°C – Graus centígrados
μL – microlitro
μm – micrômetro
AACP – Área Abaixo da Curva de Progresso
AACPD - Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença
AC – Aceitabilidade do consumidor
ADE – Água destilada estéril
AtPGIPs - *polygalacturonase-inhibiting proteins* (Proteínas inibidoras de poligalacturonase)
BSA – Batata Sacarose Agar
CaCO₃ – Carbonato de cálcio
CC – Concentração
cm – centímetro
CV – coeficiente de variação
DAI - Dias após a inoculação
DAS – Dias após a sementeira
DL – diâmetro de lesões
DNA - *deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
ENA – Escola Nacional de Agronomia
FV – Fonte de variação
g - grama
GEN – Genótipo
GL – Graus de liberdade
gpd - *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase)
H₂O₂ – Água oxigenada
ha - hectare
ITS – Espaçador transcrito interno
Kg - Quilo
KH₂PO₄ - Hidrogenofosfato de Potássio
KNO₃ – Nitrato de Potássio
L - Litro
LRR - *Leucine-rich repeat* (repetição rica em leucina)
MAS - ‘Mascot’
MAT – *Mating-type*
Mm – Milímetro
mM – Milimolar
NDP – Número de dias de precipitação
NL – Número de lesões
P.s.t – *Pseudomonas syringae tomato*
PAB – ‘Perinha Água Branca’
PGIPs - *Polygalacturonase-inhibiting proteins* (proteínas inibidoras de poligalacturonase)
PI – Período de incubação
PL – Período latente
PR – Padrão resistente
RAPD – *Random Amplified Polymorphic DNA* (DNA polimórfico amplificado ao acaso)

RR – Resistente à Requeima
AP – Alta produção
RS – Resistente
SC – Suscetível
SENA – *Stemphylium* Escola Nacional de Agronomia
Sm – gene de resistência ao *Stemphylium*
t - tonelada
T - Temperatura
Tmax – Temperatura máxima
Tmed – Temperatura média
Tmin – Temperatura mínima
UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UR – Umidade Relativa
URmax - Umidade Relativa Máxima
URmed - Umidade Relativa Média
URmin - Umidade Relativa Mínima
UV – Ultra violeta
V8 – suco de oito legumes
AA – meio Ágar Ágar
Pg – picograma
Kb – quilo base
Mbp – mega pares de base

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A cultura do Tomateiro.....	3
2.1.1 Origem e taxonomia	3
2.1.2 Descrição botânica do tomateiro.....	3
2.1.3 Situação econômica do tomateiro x condições climáticas para o cultivo...4	
2.2 Mancha-de-estenfílio	5
2.2.1 O patógeno	5
2.2.2 Histórico da mancha-de-estenfílio	7
2.2.3 Sintomatologia	7
2.2.4 Hospedeiros.....	8
2.2.5 Ciclo de relação patógeno hospedeiro.....	8
2.2.6 Condições favoráveis para o desenvolvimento do patógeno	9
2.2.7 Metodologias para avaliação de ensaios com a mancha-de-estenfílio	11
2.2.8 Estratégias de controle.....	12
2.2.8.1 Resistência genética	12
2.2.9 Histórico do melhoramento genético do tomateiro.....	14
3. REFERÊNCIAS.....	18

CAPITULO I

Desenvolvimento <i>in vitro</i> de <i>Stemphylium solani</i> sob diferentes condições de temperatura, período de molhamento e fotoperíodo	28
RESUMO	29
4. INTRODUÇÃO	30
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
5.1. Efeito da temperatura e período de molhamento no processo germinativo (ensaio 1).....	31
5.2 Efeito do período de molhamento no processo germinativo (ensaio 2).....	32
5.3 Efeito do fotoperíodo no processo germinativo (ensaio 3)	32
5.4 Efeito da temperatura e fotoperíodo no crescimento micelial e produção de conídios (ensaio 4).....	32
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
6.1 Efeito da temperatura e período de molhamento no processo germinativo (ensaio 1).....	34
6.2 Efeito do período de molhamento no processo germinativo (ensaio 2).....	38
6.3 Efeito do fotoperíodo processo germinativo (ensaio 3)	41
6.4 Efeito da temperatura e fotoperíodo no crescimento micelial e produção de conídios (ensaio 4).....	43
7. CONCLUSÕES	47
8. REFERÊNCIAS.....	48

CAPITULO II

Ensaio monocíclicos <i>in vitro</i> e em casa-de-vegetação: efeito da temperatura, período de molhamento, concentração de conídios e estágio fenológico das plantas no progresso da mancha-de-estenfílio do tomateiro	52
RESUMO	53
9. INTRODUÇÃO	54
10. MATERIAL E MÉTODOS	55
10.1 Produção de inóculo.....	55

10.2	Ensaio preliminares	55
10.2.1	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> na infecção de plântulas de tomateiro, <i>in vitro</i>	55
10.2.2	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> na infecção de folhas destacadas de tomateiro, <i>in vitro</i>	56
10.2.3	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> na infecção de frutos de tomateiro, <i>in vitro</i>	57
10.2.4	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> e do período de molhamento na infecção de plantas cultivadas em casa-de-vegetação.....	58
10.3	Efeito da temperatura na infecção do <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro, sob condições de câmara de crescimento.....	59
10.4	Efeito da duração do período de molhamento foliar na infecção de <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro sob condições de câmara de crescimento	60
10.5	Efeito da concentração de conídios na infecção do <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento	60
10.6	Efeito da concentração de conídios na infecção de frutos de tomateiro por <i>S. solani</i> , em câmara de crescimento.....	61
10.7	Efeito da idade da planta e da folha na infecção de <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro	62
11.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
11.1	Ensaio preliminares	64
11.1.1	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> na infecção em plântulas de tomateiro, em condição <i>in vitro</i>	64
11.1.2	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> na infecção em folhas destacadas de tomateiro, <i>in vitro</i>	66
11.1.3	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> na infecção de frutos de tomateiro	68
11.1.4	Efeito da concentração de conídios de <i>S. solani</i> e do período de molhamento na infecção de plantas de tomateiro em condições de casa-de-vegetação	68
11.2	Efeito da temperatura na infecção do <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento.....	73
11.3	Efeito da duração do período de molhamento foliar na infecção de <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento	80
11.4	Efeito da concentração de conídios na infecção de tomateiro por <i>S. solani</i> , em câmara de crescimento.....	83
11.5	Efeito da concentração de conídios na infecção em frutos de tomateiro, em câmara de crescimento.....	89
11.6	Efeito da idade da planta e da folha na infecção de <i>S. solani</i> em plantas de tomateiro	93
12.	CONCLUSÕES	101
13.	REFERÊNCIAS.....	102
CAPITULO III		
	Avaliação de acessos de tomateiro quanto à resistência à mancha-de-estenfilio em casa-de-vegetação.....	106
	RESUMO	107
14.	INTRODUÇÃO	108
15.	MATERIAL E MÉTODOS.....	109

15.1. Avaliação inicial de genótipos de tomateiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio (ensaio 1)	109
15.2. Avaliação de genótipos pré-selecionados quanto a resistência à mancha-de-estenfílio	111
15.3 Análise de dados	112
16. RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
16.1 Avaliação inicial de genótipos de tomateiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio (ensaio 1)	113
16.2 Avaliação dos genótipos pré-selecionados quanto a resistência à mancha-de-estenfílio	121
17. CONCLUSÕES	123
18. REFERÊNCIAS	124

CAPITULO IV

Progresso da mancha-de-estenfílio em diferentes genótipos de tomateiro, em condições de campo	126
RESUMO	127
19. INTRODUÇÃO	128
20. MATERIAL E MÉTODOS	129
20.1 Infecção de <i>Stemphylium</i> spp em diferentes genótipos de tomateiro no campo	129
21. RESULTADOS E DISCUSSÃO	132
22. CONCLUSÕES	155
23. REFERÊNCIAS	156
24. CONCLUSÕES GERAIS	158
ANEXO I	159
ANEXO II	165

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil produz 3.873.985 toneladas (t) de tomate (*Solanum lycopersicum*) distribuídas em 64.782 hectares (ha), sendo os estados de Goiás (1.157.078 t ha⁻¹), São Paulo (824.337 t ha⁻¹) e Minas Gerais (444.615 t ha⁻¹) os três maiores produtores (IBGE, 2012). O Estado do Rio de Janeiro está em 5º lugar no ranking nacional (195.665 t ha⁻¹) com uma produtividade de 74,77 t ha⁻¹, acima da média nacional que é de 59,80 t ha⁻¹ (IBGE, 2012).

As lavouras de tomate para consumo *in natura* apresentam elevado custo de produção decorrentes do alto uso de mão-de-obra e de insumos como fertilizantes, sementes e agrotóxicos. Entre os agrotóxicos estão os fungicidas e bactericidas para controle de diferentes doenças, principalmente as foliares, como a mancha-de-estenfílio, considerada uma doença esporádica ou secundária. No entanto, tem sido observada com maior frequência em plantas de tomateiro das principais regiões produtoras do Brasil devido principalmente ao uso de cultivares suscetíveis à doença (KUROZAWA & PAVAN, 1997; REIS & BOITEUX, 2006; DOMINGUES, 2012).

A mancha-de-estenfílio do tomateiro pode ser causada por quatro espécies, *Stemphylium solani* Weber, *S. lycopersici* Ellis & Gibson, *S. botryosum* Wallr. e *S. vesicarium* (Wallr) Simmons. Destas espécies, apenas as duas primeiras são relatadas no Brasil (REIS *et al.*, 2006).

Os sintomas da doença ocorrem principalmente nas folhas e são caracterizados pela formação de pequenas lesões marrom-escuras e de formato irregular (ROTEM & BASHI, 1977). O principal dano se dá pela redução da área fotossintética e do potencial produtivo (KUROZAWA & MUSSI, 1995). Informações sobre as condições ótimas para ocorrência das infecções e o desenvolvimento da epidemia são escassas ou vagas. De acordo com Kurozawa & Pavan (1997), para um processo germinativo bem sucedido são necessárias duas horas em presença de um filme de água e a faixa favorável de temperatura está entre 25 a 28°C. As infecções são favorecidas por condições de alta umidade relativa e temperaturas de 25 a 30°C (KRANZ, 1977).

As estratégias de controle da mancha-de-estenfílio consistem na eliminação de restos culturais logo após a última colheita; restrição ao plantio próximo de plantas hospedeiras, em sua maioria solanáceas; rotação com culturas não-hospedeiras; uso de genótipos resistentes e aplicação de fungicidas. Embora o controle químico seja comumente empregado nas lavouras de tomate, o genético é o mais eficiente (KUROZAWA & PAVAN, 1997). Considerando as premissas de que resistências qualitativas podem ser pouco duráveis ou quebradas com o cultivo continuado das cultivares portadoras destes genes e que resistências quantitativas tem seu efeito afetado pelas condições de ambiente (CAMARGO & BERGAMIN FILHO, 1995), há a necessidade do trabalho contínuo no melhoramento genético e de se obter mais informações sobre este patossistema e respostas fisiológicas à infecção.

Tendo em vista o panorama acima mencionado, e ainda que a espécie *S. solani* predomina nas lavouras de tomateiro (SANTOS, 1995), este trabalho teve como objetivos determinar as condições ótimas para o desenvolvimento da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro e avaliar a resposta de diferentes acessos à infecção pelo patógeno *S. solani*. Para tanto, o trabalho foi dividido em quatro fases com os seguintes objetivos específicos:

1º Fase: Efeito de ambiente sobre o patógeno

1) Determinar as condições ótimas de temperatura, umidade e fotoperíodo para a germinação dos conídios, e o efeito destas variáveis sobre o número e crescimento dos tubos germinativos emitidos.

2) Determinar as condições ótimas de temperatura e fotoperíodo para o crescimento micelial do patógeno, *in vitro*, e a esporulação.

3) Obter informações para auxiliar a produção de conídios *in vitro*

2º Fase: Estudo dos monocíclicos em condições *in vitro* e em casa-de-vegetação

- 4) Determinar o efeito da temperatura, do período de molhamento foliar e da concentração de conídios sobre a infecção de *S. solani* em tomateiro, bem como a resposta do hospedeiro em diferentes estádios de desenvolvimento.
- 5) Avaliar o progresso da doença em plantas individuais de tomateiro.
- 6) Verificar se o *S. solani* é capaz de infectar frutos de tomateiro.
- 7) Obter informações para um protocolo de instalação e avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro, em condições de laboratório

3º Fase: Resposta de diferentes genótipos à infecção pelo patógeno em condições de casa-de-vegetação

- 7) Avaliar a resposta de diferentes genótipos de tomateiro da coleção do Laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes da UFRRJ à infecção de *S. solani* para selecionar genótipos promissores para programas futuros de melhoramento
- 8) Determinar a melhor fase para quantificação da doença.

4º Fase: Avaliação do progresso da doença em condições de campo

- 8) Avaliar a doença em genótipos pré-selecionados de tomateiro.
- 9) Avaliar o efeito da doença na produtividade de genótipos de tomateiro pré-selecionados.
- 10) Desenvolver metodologia de avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro, no campo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do Tomateiro

2.1.1 Origem e taxonomia

As espécies de tomate são originárias da região andina, com domesticação na região de Puebla e Vera Cruz no México (CURRENCE, 1963; STEVENS & RICK, 1986). Para alguns autores, o tomate é descendente de algumas espécies silvestres que produzem frutos vermelhos e pequenos, o tomate cereja (CANDOLLE, 1886; MARANCA, 1981; STEVENS & RICK, 1986; RICK, 1991). Contudo, investigações genéticas têm mostrado que as plantas conhecidas como '*cerasiforme*' são originárias do cruzamento entre tomates silvestres e cultivados, em vez de ser "ancestral" das cultivadas (NESBITT & TANKSLEY, 2002). Este fato foi relatado por Blanca *et al.* (2012) com a análise de polimorfismo de base única, confirmando que *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* não é o ancestral do tomate cultivado.

O tomateiro é uma dicotiledônea, da ordem Tubiflorae, família Solanaceae, diplóide (2n=24) e tipicamente autógama (PERALTA *et al.*, 2005). Quanto ao gênero, há divergências. O primeiro pesquisador a considerar as espécies de tomate cultivado como pertencentes a um gênero distinto, *Lycopersicon* (do grego pêssego de lobo), foi Tournefort (1694). Em 1753, Linnaeus enquadrou o tomateiro no gênero *Solanum*, relatando duas espécies, *S. lycopersicum* e *S. peruvianum*. Miller, em 1754, descreveu formalmente o gênero *Lycopersicon*, separando o tomateiro da cultura da batata (*Solanum tuberosum*). Börner (1912) também propôs um novo gênero (*Solanopsis*), baseando-se na afinidade entre estas duas espécies. Para Müller (1940), o gênero *Lycopersicon* deveria ser dividido em dois subgêneros, o *Eulycopersicon* C. H. Müll e o *Eriopersicon* C. H. Müll. O subgênero *Eulycopersicon* caracterizado por espécies de frutos glabros, coloração vermelha e laranja, sementes achatadas, inflorescência com brácteas e folhas com pseudoestímulas (*L. esculentum* e *L. pimpinellifolium*) e o subgênero *Eriopersicon* com espécies de frutos de coloração verde, sementes compactas, inflorescência com brácteas e folhas com pseudoestímulas (*L. peruvianum*, *L. cheesmanii*, *L. hirsutum* e *L. glandulosum*). Child (1990) sugeriu a inclusão do tomateiro no gênero *Solanum* subgênero *Potatoe* (G. Don) D'ARCY, seção *Lycopersicon*, subseção *Lycopersicon*, segregando as espécies em três séries: *Eriopersicon* (C. H. Müll.) Child, constituído pelas espécies *S. habrochaites* (*L. hirsutum*), *S. chmielewskii*, *S. chilense*, *S. peruvianum*, *S. neorickii* (*L. parviflorum*); série *Lycopersicon* constituída por *S. lycopersicon* (*L. esculentum*), *S. pimpinellifolium*, *S. cheesmanii*, e a última série *Neolycopersicon* (Correll) Child, constituída pela espécie *S. pennelli* (PERALTA & SPOONER, 2001).

Embora muitos autores ainda adotem a nomenclatura *L. esculentum*, a partir de estudos filogenéticos utilizando sequência de DNA (SPOONER *et al.*, 2005) e estudos morfológicos e de distribuição das plantas, tem sido aceita a sua reclassificação e denominação científica como *Solanum lycopersicum* (WARNOCK, 1988; PERALTA *et al.*, 2001; SPOONER *et al.*, 2003; PERALTA *et al.*, 2006), conforme consta no *Code of Nomenclature for Cultivated Plants* (BRICKELL *et al.*, 2004).

2.1.2 Descrição botânica do tomateiro

O tomateiro é uma planta perene e de porte arbustivo e cultivada como cultura anual (MELO, 1989). O desenvolvimento pode ser rasteiro, semi-ereto ou ereto, com hábito de crescimento indeterminado (crescimento contínuo com dominância apical) e determinado (ausência de dominância apical) (GARDÉ & GARDÉ, 1964).

A propagação é predominantemente pelas sementes, de formato reniforme, tamanho pequeno e com minúsculos pêlos de coloração marrom-clara (ALVARENGA, 2004). A plântula é inicialmente ereta, e com o crescimento se torna decumbente (ESPINOZA, 1991; FILGUEIRA, 2003). A superfície do caule é angulosa, com pêlos aguçados e outros pêlos glandulares capitatos que saem da epiderme, cuja essência confere aroma característico a planta. As folhas são alternadas, de forma oval a oblonga, compostas de 11 a 32 cm de comprimento (ALVARENGA, 2004). O sistema radicular é do tipo pivotante e aproximadamente 80% das raízes estão nos primeiros 45 cm de profundidade (ESPINOZA, 1991).

As flores são pequenas de coloração amarela e dispostas em cachos. O pedúnculo é curto, o cálice é gamossépalo, com cinco a dez lóbulos profundos, e a corola é gamopétala, rotácea, com cinco ou mais lóbulos (ESPINOZA, 1991). O androceu apresenta cinco ou mais estames aderentes à corola, com anteras coniventes, formando um tubo. O gineceu é constituído por 2 a 30 carpelos que originam os lóculos do fruto, e um pistilo de ovário súpero, com estilete liso e estigma achatado, que se desloca através do tubo formado pelas anteras (ESPINOZA, 1991). Os cachos de flores podem ser do tipo simples (não ramificado) ou composto (ramificado) (MINAMI & HAAG, 1989).

O cruzamento natural é, em geral, inferior a 5%, sendo realizado principalmente por insetos (MELO, 1989; ALVARENGA, 2004). Nas cultivares modernas, o estilete é mais curto e predominam plantas autógamas (MELO, 1989). De acordo com Maluf (1994), com o advento das cultivares americanas, especialmente da Califórnia, a posição do estigma está em um nível ainda mais baixo. Os frutos são bagas carnosas, suculentas, bi, tri ou plurilocular, variando em aspecto, tamanho e peso de 5 até 500g, dependendo da cultivar e do manejo adotado (ALVARENGA, 2004). O formato pode ser globular, cilíndrico, periforme ou oblongo. Os frutos de tomate são tipicamente climatéricos e iniciam o seu amadurecimento com a elevação na atividade respiratória. A coloração vermelha é a mais comum, determinada por uma mistura de dois pigmentos, o licopeno (vermelho) e o caroteno (amarelo) (FILGUEIRA, 2003).

2.1.3 Situação econômica do tomateiro x condições climáticas para o cultivo

O tomate é a segunda hortícola mais importante do Brasil e a sua produção está dividida em dois segmentos distintos: frutos destinados ao consumo *in natura* e frutos destinados à indústria de processamento. As duas respectivas cadeias produtivas possuem características completamente distintas quanto ao método de cultivo e manejo, processamento pós-colheita, comercialização e uso de cultivares (KROSS *et al.*, 2001).

Os três maiores produtores mundiais de tomate são: China, Índia e Estados Unidos da América, com produção de 48.576.853, 16.826.000 e 12.624.700 toneladas, respectivamente (FAO, 2011). O Brasil está na oitava posição no ranking mundial com uma produção de 3.873.985 toneladas, distribuídas em 64.782 hectares (ha). Esta produção está concentrada nas regiões Sudeste (41%) e Centro-Oeste (30%), seguido da região Nordeste e Sul, 10 e 15%, respectivamente (IBGE, 2012). No que se refere à produtividade, a média nacional é de 59,80 t ha⁻¹, as regiões Norte, Nordeste e Sul se encontram abaixo deste valor com 15,84; 38,57 e 58,62 t ha⁻¹, respectivamente. As regiões Sudeste e Centro-Oeste apresentam 64,15 e 73,87 t ha⁻¹ de produtividade. Os três maiores estados produtores são Goiás (1.157.078 t ha⁻¹), São Paulo (824.337 t ha⁻¹) e Minas Gerais (444.615 t ha⁻¹). O Rio de Janeiro está no 5º lugar do ranking nacional com produtividade de 74,77 t ha⁻¹. A distribuição da produção e produtividade está relacionada às condições climáticas de cada região, principalmente no que diz respeito à temperatura, luminosidade e umidade (umidade relativa do ar e precipitação).

Os requerimentos da cultura de tomate estão diretamente relacionados ao seu centro de origem (Região Andina). O seu desenvolvimento e produção são favorecidos por condições de clima tropical de altitude e subtropical (CURRENCE, 1963), porém, tolera bem variações dos fatores climáticos (DUSI *et al.*, 1993).

O tomateiro é exigente em termoperiodicidade diária, isto é, requer temperaturas diurnas amenas e noturnas menores, com uma diferença entre elas de 6-8°C (FILGUEIRA, 2003). De acordo com Dusi *et al.* (1993), a faixa de 20 a 25°C favorece a germinação, enquanto a de 18 a 25°C promove o desenvolvimento vegetativo. Temperaturas noturnas altas contribuem para o crescimento rápido da planta. No entanto, temperaturas além de 32°C induz a queda das flores e inibe o desenvolvimento dos frutos. Temperaturas superiores a 34°C causam distúrbios respiratórios e, quando superiores a 37°C, causam o amolecimento dos frutos.

De forma geral pode-se sintetizar as condições ideais para a produção de tomate como sendo aquelas com temperaturas médias noturnas de 18°C e diurnas próximas de 25°C. Temperaturas acima de 35°C, principalmente noturna, afetam o pegamento e a maturação dos frutos (SEDIYAMA *et al.*, 2003).

2.2 Mancha-de-estenfílio

2.2.1 O patógeno

O gênero *Stemphylium* Wallr. pertence ao reino Fungi; filo Ascomycota; classe Dothideomycetes, sub-classe Pleosporomycetidae; ordem Pleosporales e família Pleosporaceae (KIRK *et al.*, 2008). O gênero foi descrito em 1833 por Wallroth (SIMMONS, 1967), compreendendo cerca de 50 espécies (KIRK *et al.*, 2008) e tem *Stemphylium botryosum* Wallr como espécie tipo.

As espécies de *Stemphylium* são caracterizadas por conídios muriformes, septados, geralmente pigmentados, produzidos por um poro apical do conidióforo, que prolifera de modo percorrente (SIMMONS, 1967). Em relação a mudanças na classificação, entre 1933 e 1936, Wiltshire, após estudos com os gêneros *Alternaria*, *Stemphylium* e *Macrosporium*, concluiu que o *Macrosporium* poderia ser suprimido em proveito do gênero *Alternaria* e que o gênero *Stemphylium*, por apresentar dois tipos morfológicamente diferentes de desenvolvimento de conidióforos, deveria ser subdividido em dois subgêneros. Um composto por espécies semelhantes a *S. botryosum* denominado de *Eustemphylium* e o segundo subgênero *Pseudostemphylium*, exemplificado pela espécie *S. lanuginosum* Harz (WILTSHIRE, 1938). No entanto, foram encontradas dificuldades no enquadramento de espécies semelhantes a *S. lanuginosum* quando os conidióforos mostravam-se distintos da espécie *S. botryosum* e os conídios dessemelhantes a espécie *A. tenuis* Nees do gênero *Alternaria*. Assim, a espécie *S. lanuginosum* foi incluída no gênero *Ucladium* por Simmons (1967).

Estudos referentes a evolução do *Stemphylium* apontam a ocorrência de um raro evento de hibridação sexual ou assexual, seguido por separação da linhagem. Para Inderbitzin *et al.* (2005), o *Stemphylium* evoluiu de três autofecundações, a partir de antecessores auto-estéreis, contudo o mecanismo e a direção da transferência entre as linhagens são desconhecidos. De acordo com Câmara *et al.* (2002), estudos sobre as relações filogenéticas para 44 isolados de 16 espécies de *Stemphylium*, com regiões *ITS* e sequências de *gpd*, suportaram a informação que o gênero é monofilético. Em espécies com a fase teleomórfica conhecida, o estado sexual é a *Pleospora*, formado em condições de frio (4°C). A associação entre a fase de *Stemphylium* e *Pleospora* foi estabelecida para 15 taxóns: *S. alfalfae* Simmons, *S. astragali* Yoshii, *S. bolickii* Sobers & Seymour, *S. botryosum*, *S. botryosum* f. *lactucum*, *S.*

drummondii Nirenberg & Plate, *S. globuliferum* (Vertergren) Simmons, *S. gracilariae* Simmons & Schatz, *S. herbarum* (Pers: Fries) Rabenhorst ex Cesati & DeNotaris, *S. lancipes* (Ellis & Everhart) Simmons, *S. loti* Graham, *S. majusculum* Simmons, *S. trifolii* Graham, *S. trigochinicola* Sutton & Pirozynski, e *S. vesicarium* (Wallr.) Simmons (SIMMONS, 1969). A ausência da fase sexual em muitas espécies deste gênero é atribuída a aparente perda da habilidade fúngica de formar esta fase (CÂMARA *et al.*, 2002).

A ocorrência da mancha-de-estenfilio na cultura do tomateiro (*S. lycopersicum*) está relacionada a quatro espécies, *S. solani* Weber, *S. lycopersici* (Enjoji) W. Yamamoto (syn. *S. floridanum* Hannon & G. F. Weber), *S. botryosum* Wallr. e *S. vesicarium* (Wallr) Simmons, destas apenas as duas primeiras ocorrem no Brasil (REIS *et al.*, 2006). Segundo Rotem & Bashi (1977), as espécies *S. solani*, *S. lycopersici* e *S. botryosum* são encontradas mais frequentemente em regiões de clima tropical e subtropical do que nas temperadas. Estas informações podem estar relacionadas com o centro de origem do patógeno e seu hospedeiro, lembrando que o primeiro relato desta espécie foi na cultura do algodão (*Gossypium hirsutum*) e na sequência no tomate (WEBER, 1930). Outros autores afirmam que o fungo é nativo de trevos (*Trifolium* e *Medicago*) (GILBERT & PARKER, 2010).

As espécies que infectam o tomateiro no Brasil podem ser diferenciadas pelas características morfológicas dos conidióforos e conídios. Os conidióforos do *S. solani* são mais longos (até 200 µm) e estreitos (4-7 µm de largura) que os de *S. lycopersici* (até 140 µm e 6-7 µm de largura). Os conídios de *S. solani* possuem 3 a 6 septos transversais (além dos longitudinais) e em sua maioria com constrito no meio dos septos, medindo de 35-55 x 18-28 µm. Os conídios de *S. lycopersici* são pontiagudos cônico até o ápice, com 1 a 8 septos transversais (alguns longitudinais) e geralmente com constrito nos três maiores septos transversais, medindo de 50-74 x 16-23 µm (ELLIS, 1971). A prevalência de *S. solani* em lavouras de tomate provavelmente está associada à sua adaptação a temperaturas mais elevadas (SANTOS, 1995) e a maior gama de hospedeiros. Reis & Boiteux (2006) verificaram a infecção de *S. solani* em jiló (*Solanum gilo* L.), no pimentão (*Capsicum annuum* L.), na berinjela (*Solanum melongena* L.), no algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), em *C. chinense* 'Pimenta Biquinho', em *Nicandra physaloides*, em *Solanum palinacanthum*, em *Cyphomandra betacea* (= *Solanum betacea*) e no manjeriço (*Ocimum basilicum*).

Análises filogenéticas moleculares constituem uma importante ferramenta na descrição e diferenciação de espécies, uma vez que, ao contrário dos caracteres morfológicos observáveis, a análise das sequências de DNA não está sujeita às variações ambientais (PEI *et al.*, 2010). Mehta (2001), ao utilizar a técnica de RAPD em isolados de *S. solani* oriundos de algodão e tomate, verificou grande variação entre os mesmos, a qual não está relacionada com a hibridização sexual. Segundo o autor a diferença entre os isolados pode ser atribuída à variação geográfica e não especialização do hospedeiro. Wang *et al.* (2010) adotaram o sequenciamento dos genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*gpd*) e espaçadores internos transcritos da região nuclear do rDNA (ITS), para distinguir filogeneticamente as espécies *S. phaseolina* e *S. variabilis* coletadas de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e alho (*Allium sativum*), respectivamente. Zhang *et al.* (2008) utilizaram uma matriz tecnologia para detectar e identificar 25 patógenos de solanáceas, para tal, foram incluídos pelo menos dois oligonucleotídeos específicos por patógeno. No que se refere à separação do *S. solani* quanto a raças, Nametaka & Tokeshi (1967) estudaram a capacidade de esporulação de 33 isolados de *S. solani*, provenientes de 12 municípios de São Paulo, perante diferentes meios de cultura e radiação UV, patogenicidade em tomateiro suscetível e estabilidade das características culturais e propuseram a classificação do fungo em três raças fisiológicas.

2.2.2 Histórico da mancha-de-estenfílio

O primeiro relato do gênero *Stemphylium* nos Estados Unidos da América foi em 1924, primeiramente na cultura do algodão, e na sequência no tomateiro (WEBER, 1930). Em 1939, a doença foi considerada igualmente importante à pinta preta (*Alternaria solani*). Entre os anos de 1938 e 1940, foram realizados por volta de 100 isolamentos de folhas sintomáticas e iniciado programas de melhoramento em tomateiro para a introgressão dos genes de resistência aos dois patógenos (ANDRUS *et al.*, 1942). A mancha-de-estenfílio desde então vem sendo relatada em outras regiões do mundo, como Brasil, Índia, África do Sul, Espanha, Austrália, Egito, China (MEHTA, 2001; ZHENG *et al.*, 2010) e Malásia (NASEHI *et al.*, 2012).

No Brasil, o primeiro relato ocorreu em 1945, no Estado do Rio de Janeiro (NAMETAKA & TOKESHI, 1967), apresentando frequência esporádica nos anos subsequentes. Por volta de 1967, a doença teve a sua ocorrência aumentada nas lavouras de tomateiro. O incremento foi atribuído ao plantio praticamente exclusivo da cultivar ‘Santa Cruz’ (produzida no Rio de Janeiro por volta de 1940), suscetível ao patógeno, devido a exigências de mercado, principalmente em São Paulo (NAMETAKA & TOKESHI, 1967; ALVARENGA, 2004).

A fim de se evitar os problemas fitossanitários decorrentes do plantio desta cultivar, em 1969 foi obtida a linhagem ‘Ângela’, resistente à mancha-de-estenfílio, oriunda do cruzamento da cultivar ‘Santa Cruz’ com plantas de tomate resistentes a este patógeno e a ao vírus Y, seguido de retrocruzamentos (ALVARENGA, 2004). Posteriormente, com o cruzamento da cultivar ‘Ângela’ e o híbrido F₁ Duke, o Instituto Agrônomo de Campinas lançou em 1986, a cultivar ‘Santa Clara’ (ALVARENGA, 2004).

Devido ao uso de cultivares resistentes, aliado a aplicações periódicas de fungicidas, a mancha-de-estenfílio passou a ser considerada uma doença de importância secundária (MEHTA, 2001). No entanto, epidemias severas têm sido observadas sugerindo que resistência a esta doença não tem sido incorporada às novas cultivares de tomate (REIS *et al.*, 2006). Como exemplo pode-se citar a introdução e amplo cultivo de híbridos longa vida, como a cultivar ‘Débora Plus’, suscetível ao patógeno (ALVARENGA, 2004). De acordo com o levantamento realizado por Reis & Boiteux (2006), de 50 cultivares comerciais testadas, apenas 32% apresentavam resistência genética à doença. Domingues (2012) testou as principais cultivares (‘Forty’, ‘Perinha Água Branca’, ‘Carmen’, ‘Sweet Grape’, ‘Débora Plus’, ‘Serato’, ‘Santa Clara’, ‘Dominador’, ‘Jumbo’ e ‘Lumi’) plantadas na região produtora de tomate do Rio de Janeiro, os sintomas surgiram em todos os genótipos, sendo o ‘Serato’, o ‘Lumi’ e a ‘Carmem’ os mais suscetíveis à doença.

2.2.3 Sintomatologia

A infecção ocorre principalmente nas folhas, tanto jovens como senescentes. Em condições favoráveis e alta quantidade de inóculo, podem ser observadas lesões da doença nos pecíolos e nos pedúnculos florais (ROTEM & BASHI, 1977; JONES, 1991). De acordo com estes autores, não ocorre lesões em frutos e esta informação ainda é utilizada. Contrariando a literatura, o presente trabalho comprovou que o *S. solani* é capaz de infectar o fruto do tomateiro, tanto naturalmente como por inoculação e na presença ou ausência de ferimentos. A doença ataca o tomateiro em qualquer estágio de desenvolvimento, desde o plantio nas sementeiras até o período de colheita; neste último com maior frequência (JONES, 1991; KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Os sintomas da mancha-de-estenfílio são caracterizados por pintas pequenas, irregulares, às vezes circulares, ligeiramente deprimidas, com coloração marrom-acinzentada

a preta, as quais se tornam rapidamente necróticas e circundadas por halo clorótico, com 1 a 10 mm de diâmetro, frequentemente rompidas ao atingir seu tamanho máximo (ROTEM & BASHI, 1977).

O principal dano causado pela mancha-de-estenfílio é a redução da área foliar e, conseqüentemente, do potencial produtivo da planta (KUROSAWA & MUSSI, 1995). Segundo estes autores, a incidência é maior em folhas mais novas, afetando principalmente a porção apical. Contrariando esta informação, Domingues (2012) observou que a infecção não estava restrita na porção apical, e ainda, a severidade da doença era maior em folhas mais velhas. Dados que corroboram com os resultados observados neste trabalho, há maior severidade nas folhas mais velhas e a infecção pode ocorrer em qualquer posição das folhas, não estando limitada nas folhas mais jovens.

2.2.4 Hospedeiros

Além do tomateiro, as espécies *S. solani* e *S. lycopersici* podem atacar cerca de 20 outras espécies da família das solanáceas, entre as quais, o pimentão (*Capsicum annuum* L.), as pimentas (*Capsicum* spp), o jiló (*S. gilo*), a batata (*S. tuberosum*), a berinjela (*S. melongena*) e a lobeira (*S. lycocarpum*) (MIZUBUTI & BROMMONSCHENKEL, 1996; BOITEUX *et al.*, 1993; MEHTA, 1998). Já a espécie *S. lycopersici* apresenta uma quantidade menor de hospedeiros (MENDES *et al.*, 1998).

2.2.5 Ciclo da relação patógeno hospedeiro

No campo, temperaturas entre 25 e 30°C e a alta umidade relativa do ar contribuem para o desenvolvimento da doença (KRANZ, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997). JONES (1991) relatou que temperaturas na faixa de 24 a 27°C e alta umidade relativa do ar são ideais para o desenvolvimento da doença. Ainda, sob temperaturas moderadas e ambientes úmidos, podem ser produzidos dois ciclos de esporos por semana (WALTER, 1967). A forma perfeita é formada sob condições de frio prolongado (4°C), no entanto não foi relatada para *S. solani* (SIMMONS, 1967).

O mecanismo de sobrevivência do patógeno não está totalmente elucidado. Alguns autores atribuem a infecção primária aos conídios disseminados via corrente de ar, provenientes de outros hospedeiros (MEHTA, 1998) ou de restos culturais onde o patógeno sobrevive de um ano para outro (REIS & BOITEUX, 2006). 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 dispersão dos conídios.

S. solani pode colonizar rapidamente o tecido hospedeiro resultando em sintomas visíveis cerca de dois a três dias após a inoculação e mais dois a três dias para esporulação (ROTEM & BASHI, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997). O processo de infecção de plantas de tomateiro pelo patógeno foi estudado por meio de técnicas histológicas e de microscopia eletrônica de varredura (BENTES & MATSUOKA, 2005a). Os autores observaram que os conídios germinam com seis horas, originando vários tubos germinativos por conídio, dos quais somente um ou, eventualmente, dois penetraram no hospedeiro. As hifas penetram via-estômatos após 12 horas, sendo que a penetração direta, através da parede periclinal das células da epiderme, pode também eventualmente ocorrer. Segundo os autores, a intumescência do ápice do tubo germinativo foi raramente verificada e, apesar de formar uma estrutura semelhante a apressório, não houve penetração a partir desta estrutura. Na maioria dos casos, não houve diferenciação do tubo germinativo durante a penetração. Após a penetração, a hifa se expandiu originando uma vesícula de formato globoso ou irregular na

cavidade subestomática, que se ramificou, originando hifas secundárias que colonizaram o mesófilo do hospedeiro após 24 horas da inoculação (BENTES & MATSUOKA, 2005a).

No ensaio de Bentes & Matsuoka (2005a), os sintomas típicos da mancha-de-estenfílio apareceram no intervalo de 24 a 48 horas após a inoculação, na cultivar suscetível 'MoneyMaker. Após 36 horas da inoculação, foi observada a degradação do conteúdo celular e o colapso de células do mesófilo, na presença de hifas intercelulares, e em células distantes das hifas do patógeno. Estes resultados indicam que a estratégia de colonização é do tipo necrotrófica (BENTES & MATSUOKA, 2005a), conforme mencionado por Alexopoulos *et al.* (1996).

2.2.6 Condições favoráveis para o desenvolvimento do patógeno

Rotem & Bashi (1977) correlacionaram a ocorrência de três espécies do gênero *Stemphylium* (*S. solani*, *S. floridanum* e *S. botryosum* f. sp. *lycopersici*) com as condições climáticas e presença de hospedeiros. O padrão de distribuição é mais frequente em regiões de clima subtropical e tropical do que em zonas temperadas. A ocorrência do *Stemphylium* coincide com zonas de clima tropical úmido, temperado (úmido ameno e úmido frio) e mediterrâneo (Árido e semi-árido).

Em relação às condições de ambiente adequadas ao desenvolvimento do patógeno, consta na literatura que para um processo germinativo bem sucedido são necessárias duas horas em presença de um filme de água, sendo a faixa favorável de temperatura de 25 a 28°C (KUROZAWA & PAVAN, 1997). Segundo Kim *et al.* (2004), isolados de *S. solani* provenientes de pimenta apresentaram ótima germinação e crescimento micelial a 25°C, não apresentando desenvolvimento das hifas a 5 e 35°C. Rahman *et al.* (2010) verificaram que o maior crescimento micelial de *S. botryosum* também ocorre a 25°C.

Quanto ao processo de esporulação, Hannon & Weber (1955) verificaram efeito positivo da umidade em promover a produção de conídios de *S. floridanum* nas folhas destacadas de tomate. A necessidade de umidade pode também variar entre espécies do mesmo gênero. O período de molhamento requerido para *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* é maior que o para *S. solani* e *S. floridanum* (BASHI *et al.*, 1973). Estudos apontaram que o patógeno *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* pode utilizar períodos interrompidos de molhamento e que a quantidade de conídios produzidas é maior com 8 a 16 horas de molhamento noturno, e quando a temperatura do dia é elevada, com variação noite/dia na proporção 10/20°C a 20/30°C (BASHI & ROTEM, 1975c). Segundo Paulus & Pound (1955), a esporulação de *S. solani* pode ocorrer na faixa de temperatura de 14 a 26°C, com 12 a 24 horas de molhamento. Estes mesmos autores atribuem a esporulação abundante de *S. solani* nesta faixa de temperatura à umidade relativa de 100% durante 24 horas. Contudo, temperaturas baixas como 10°C podem inibir a esporulação, mesmo quando utilizado maior período de molhamento (48 horas).

Variações no teor da água aliada a oscilações da temperatura podem determinar a duração do período de esporulação e, de modo geral, o efeito da temperatura é menos marcante que o da umidade (BEBENDO, 1995). Patógenos de clima tropical e subtropical, em sua maioria, são capazes de desenvolver em uma ampla faixa de temperatura, embora estejam sujeitos à dessecação. Alguns fungos possuem pigmentação que podem atuar como uma proteção contra o sol e altas temperaturas, como *Alternaria* e *Stemphylium*.

Em termos gerais, as temperaturas fora da faixa ótima podem inibir a esporulação, assim como as demais fases de desenvolvimento do fungo (AGRIOS, 2005). Espécies como *S. botryosum* e *S. trifolii* tem sua esporulação inibida por temperaturas acima de 28°C (KIM *et al.*, 2004). De acordo com Bashi *et al.* (1973), a esporulação de *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* pode ser observada entre 10 a 30°C, com temperatura ótima de 25°C. Bashi & Rotem (1975a),

ao testar o desenvolvimento de *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* nas temperaturas 15, 20, 23 e 30°C, também verificaram que a produção máxima de conídios ocorreu a 25°C, em escuro contínuo. Contudo, nas condições de luminosidade contínua ou 12 horas de escuro seguido de 12 horas de claro, a maior produção de conídios ocorreu na temperatura de 15°C.

No que se refere ao efeito da luz, espécies de *Stemphylium* são descritas como de esporulação diurna, sob alternância de ciclo luz e escuro (LEACH, 1967; BOSS & DAY, 2001). Esporuladores diurnos são mais adaptados a vicissitudes da natureza, como flutuação de temperatura e luz (ROTEM, 1994). A produção de conidióforos requer luz ultravioleta, enquanto a segunda fase (quando o conídio é produzido) necessita de período de escuro. Corroborando com estas informações, Minussi *et al.* (1977) relatam que a luminosidade contínua inibe a esporulação de *S. solani*; os conidióforos são formados, mas sem desenvolvimento dos conídios. O efeito inibitório da luminosidade contínua também foi observado em *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* (LEACH, 1967; BASHI & ROTEM, 1975a), porém o mesmo reduzia na medida em que a temperatura decrescia (BASHI & ROTEM, 1975a). Na condição de escuro contínuo são produzidos poucos conídios e em luminosidade contínua os conidióforos produzidos são estéreis. Alguns estudos apontam que a condição de escuro total pode promover a esporulação de *S. botryosum* f.sp. *lycopersici* em tomate, e quando aplicado algum tipo de iluminação, a maior quantidade de conídios ocorre com 12 horas de luz seguida de 12 de escuro (BASHI & ROTEM, 1975a). Para outro fungo, *Alternaria dauci*, Rotem (1994) relata a ocorrência de duas fases de esporulação: uma primeira em que a luz favorece a formação de conidióforos e uma segunda na qual os conídios são formados em condição de escuro. Nesta segunda fase, a presença de luz inibe a formação dos conídios.

Em contraste com estas informações, Wells *et al.* (1971) verificaram que o crescimento micelial e a esporulação de *S. solani* não foram afetados por diferentes regimes de luz (escuro total, luz ambiente de laboratório e fotoperíodo de 10 horas). Em relação ao comprimento de onda, alguns fungos patogênicos (a exemplo, *Alternaria*, *Botrytis* e *Stemphylium*) esporulam somente quando recebem luz na faixa do comprimento de onda do ultravioleta (UV) (abaixo de 360 nm) (AGRIOS, 2005). Neste sentido, *S. botryosum* e *S. trifolii* obtiveram melhor esporulação quando cultivados em meio V8 e submetidos a 20°C com 12 horas de luz perto do ultravioleta (KIM *et al.*, 2004). Para Cruz *et al.* (2009), independente do meio utilizado (farinha integral de arroz, aveia, centeio, cevada, trigo, triticale; BSA e extrato de tomate), a condição de luminosidade contínua proporcionou maior produção de esporos de *Pyricularia grisea* que o regime de escuro contínuo e fotoperíodo de 12 horas. Nordskog *et al.* (2007) avaliaram os efeitos direto e interativo de qualidade e intensidade da luz, temperatura e o momento da alta umidade relativa na esporulação de *Bremia lactucae*. A supressão da esporulação pela luz foi fortemente dependente da temperatura e banda mais supressora estava entre 400 a 450 nm.

Alguns fungos têm seu processo de esporulação *in vitro* estimulado quando o meio de cultura torna-se desprovido de nutrientes ou com o tipo de meio em que o microorganismo é cultivado (ROTEM *et al.*, 1978). Segundo Wells *et al.* (1971), colônias *Stemphylium* spp. mantidas a 25°C em meio V8 após 10 dias da repicagem apresentaram poucos conídios, ao passo que as colônias mantidas em BDA não apresentaram produção de conídios.

Alterações no hospedeiro também podem ocasionar mudanças no comportamento do patógeno. Por exemplo, a umidade, ao promover o crescimento do tecido mais tenro e suscetível na planta, também pode aumentar a esporulação de determinados fungos (AGRIOS, 2005). Segundo Cohen & Rotem (1970), a inibição da fotossíntese do hospedeiro tem ocasionado o aumento do potencial de esporulação da *A. porri* f. sp. *solani* em batata. Corroborando com este relato, Bashi & Rotem (1975b) afirmaram que a esporulação de *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* foi favorecida pela necrose do tecido foliar, sendo maior em

folhas mortas. O efeito da necrose foi maior que o da temperatura. A aplicação de glucose na primeira metade do período de incubação apresentou uma pequena inibição da esporulação de *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* em tomate e estimulou o crescimento vegetativo *in vitro* (BASHI & ROTEM, 1975b).

2.2.7 Metodologias para avaliação de ensaios com a mancha-de-estenfílio

O progresso de doenças em plantas ocorre tanto no tempo como no espaço. O seu estudo requer o uso de métodos adequados de quantificação que considerem diferentes aspectos, como o tipo de sintomas e as características da planta (AMORIM, 1995; VALE *et al.*, 2004).

A intensidade da doença pode ser determinada em termos de incidência, ou seja, número de unidade de plantas visivelmente doentes, em relação ao total de unidade avaliadas, ou partes da planta, como ramos, folhas, raízes. Neste sentido, Menzies *et al.* (1991) utilizaram como variável a porcentagem de caules de aspargus (*Asparagus officinalis* L.) mortos pela infecção de *Stemphylium* sp e a porcentagem de tecidos infectados. Outro critério que pode ser utilizado é a estimativa da severidade, dada pelo volume ou área de tecido doente relacionado com o total. Entre os pioneiros nesta área estão Horsfall & Barratt (1945), precedidos por Nathan Augustus Cobb (1892), que ao recorrer a lei de Weber-Fechner, baseando-se na acuidade visual, propuseram uma escala de severidade (não específica de hospedeiro). Ainda é possível observar a aplicação da mesma em estudos (MEHTA, 1998; MWAKUTUYA, 2006). As escalas também podem ser descritivas, como a utilizada por Reis & Boiteux (2006) para *S. solani* em tomateiro, e de notas (BASHI *et al.*, 1973; BEHARE *et al.*, 1991; MEHTA, 2001; ZHENG *et al.*, 2010).

Usualmente para a avaliação da mancha-de-estenfílio em tomateiro é utilizada a escala diagramática desenvolvida por Boff *et al.* (1991), conforme verificado em trabalhos como o de Rocha (2008), Paula & Oliveira (2001), Miranda *et al.* (2010) e Domingues (2012). Outras variáveis também podem ser obtidas, a exemplo, o número de lesões por folha; a área de lesão por centímetro quadrado ou também o diâmetro de lesões, como no trabalho realizado por Shishkoff & Lorbeer (1989), no qual foi quantificado o número de lesões causadas por *Stemphylium* sp., por centímetro quadrado da folha de cebola. Suheri & Price (2001) também utilizaram avaliação semelhante com *Alternaria porri* e *S. vesicarium* para a mesma cultura.

Além da quantificação da intensidade de doença, pela estimativa da incidência ou da severidade, outras variáveis também podem ser utilizadas visando aferir o efeito de condições de ambiente e de resistência quantitativa no progresso da doença. Entre estas variáveis estão os componentes de resistência, conforme Parlevliet (1979): duração do período de incubação e latente; frequência de infecção e expansão das lesões e quantidade de esporos e período infeccioso. Miranda *et al.* (2010) utilizaram o período de incubação para auxiliar na discriminação entre genótipos resistentes e suscetíveis de tomateiro à mancha-de-estenfílio, os quais formaram cinco grupos para plantas inoculadas com o isolado EH1740 e seis grupos, quando utilizado o isolado EH1749.

Um dos grandes entraves para a avaliação da mancha-de-estenfílio não está na escolha do método de avaliação, mas no critério de amostragem. Faltam informações sobre o mais adequado número de folíolos ou folhas e da posição destes na planta. Este problema também foi relatado por Domingues (2012) em ensaios desenvolvidos com genótipos de tomateiro conduzidos sob manejo orgânico. Em relação à porção da planta a ser avaliada, Kurosawa & Mussi (1995) relatam que a incidência da mancha-de-estenfílio é maior na porção apical, devido às folhas mais novas. Contudo, Domingues *et al.* (dados não publicados), ao avaliar a planta inteira de tomateiro quanto aos sintomas de *Stemphylium*, verificaram que as maiores severidades estavam nas folhas mais velhas, e que a porção ideal para a avaliação é até a sexta

folha (contando do ápice para a base), pois esta permite a discriminação dos níveis de suscetibilidade dos genótipos.

2.2.8 Estratégias de controle

Para o controle da mancha-de-estenfílio em tomateiro são recomendadas práticas como a eliminação de restos culturais logo após a última colheita; restrição ao plantio próximo de outras lavouras de tomateiro ou outras espécies hospedeiras; rotação com culturas não-hospedeiras, uso de genótipos resistentes e aplicação de fungicidas, sendo este último comumente empregado nas lavouras de tomate (KUROZAWA & PAVAN, 1977). Atualmente, são registrados produtos químicos para controle da mancha-de-estenfílio a base de clorotalonil, óxido cuproso, mancozebe, oxicloreto de cobre; além de misturas de oxicloreto de cobre com clorotalonil ou com mancozebe (SEAB, 2014).

No entanto, o uso indiscriminado e sem critério científico de fungicidas pode causar impactos negativos no meio ambiente e acarretar no surgimento de espécies resistentes às moléculas utilizadas. Neste sentido, Alberoni *et al.* (2005) testaram 516 estirpes de *S. vesicarium*, oriundos de pomares de pêra (*Pyrus communis* L) do nordeste da Itália, quanto a suscetibilidade aos dicarboximidas; destes, 227 foram considerados resistentes. Ainda em *S. vesicarium*, testes *in vitro* e análises moleculares confirmaram a primeira ocorrência de resistência de *S. vesicarium* a estrobirulinas (cresoxime-metilo, trifloxistrobina e piraclostrobina) (ALBERONI *et al.*, 2010).

Estudos com controle biológico vêm sendo desenvolvidos. Carrer Filho *et al.* (2008) testaram a actinobactéria *Nocardioides thermophilacinus*, estirpe SON-17, como agente de biocontrole de doenças do tomateiro, a qual foi capaz de inibir a germinação do *S. solani*. Em outro estudo, a germinação deste patógeno foi inibida em aproximadamente 70% com o uso de *Streptomyces setonii* (CARRER FILHO *et al.*, 2009).

De acordo com Hussein *et al.* (2007), o emprego de *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma harzianum* inibem o crescimento micelial do *S. vesicarium* e os bioagentes *B. subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* e *P. fluorescens* reduzem a severidade da doença. Silva *et al.* (2004a) utilizaram rizobactérias, anteriormente selecionadas para indução sistêmica contra *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, para controle de múltiplos patógenos causadores de doenças foliares em tomate. Entre os patógenos estudados, encontrava-se o *S. solani*, o qual teve o número de lesões reduzido com a utilização do controle biológico. O controle integrado de *B. cereus* com fungicida (clorotalonil 2g L⁻¹) também mostrou-se eficiente para controle da doença (SILVA *et al.*, 2004b).

2.2.8.1 Resistência genética

O uso de variedades resistentes é uma medida de controle a ser considerada, devido a sua alta eficiência, praticidade e custo (MIZUBUTI & BROMMONSCHENKEL, 1996; KUROZAWA & PAVAN 1997). Na literatura constam como resistentes a mancha-de-estenfílio as cultivares de tomates resistentes: ‘Santa Clara’, ‘IPA 5’, ‘Ângela’ e ‘Agrocica 33’ (KUROZAWA & PAVAN, 1997); ‘Ohio 4013’, ‘Yoshimatsu’, ‘Havaíi’ e ‘Monense’ (PAULA & OLIVEIRA, 2001).

A resistência a diversas doenças no tomateiro, inclusive a mancha-de-estenfílio, foi identificada por Andrus *et al.* (1942) em espécies de frutos vermelhos de *L. pimpinellifolium*. Segundo a *Tomato Genetics Cooperative*, que edita o *Report of the Tomato Genetics Cooperative*, até 1979 havia cerca de 970 genes descritos do tomateiro. A resistência ao *Stemphylium* é relatada como quantitativa e determinada pela atividade de um único gene (gene *Sm*) (HENDRIX & FRAZIER, 1949).

O termo penetrância refere-se à presença ou ausência de uma característica ou condição clínica sabidamente determinada por um gene (GRIFFITHS *et al.*, 2000). Neste caso, o indivíduo possui a característica ou não. Em determinadas situações, apenas uma parcela dos portadores do genótipo apresenta o fenótipo correspondente, o que corresponde a penetrância incompleta. As possíveis causas de penetrância incompleta são condições ambientais e o *background* genético. Neste último, quando o híbrido na F₁ apresenta expressão do fenótipo na F₁ suscetível às condições ambientais; pelo menos em teoria podem obter-se nas gerações subsequentes, após a recombinação implicando os genes modificadores, linhas puras que, fenotipicamente iguais a cada um dos progenitores da F₁, seriam compatíveis com uma penetrância completa nos híbridos entre elas. Outro fenômeno é a expressividade que refere-se à existência de uma variação fenotípica entre indivíduos com o mesmo genótipo (GRIFFITHS *et al.*, 2000).

Outra medida para descrever a variedade de expressão fenotípica é chamada de expressividade. Expressividade mede a extensão à qual um dado genótipo é expresso a nível fenotípico. Diferentes níveis de expressão em diferentes indivíduos podem ser devido à variação alélica na constituição do resto do genoma ou a fatores ambientais. Considerando estes conceitos, pode-se presumir que a resistência ao *S. solani* é de penetrância incompleta e com expressividade variável.

O gene *Sm* confere resistência à quatro espécies do gênero e apresenta grande estabilidade, inclusive frente a diferentes isolados de *S. solani* e *S. lycopersici* (BEHARE *et al.*, 1991). Segundo Blancard & Laterrot (1986), apesar de este gene ser eficiente contra isolados de *S. vesicarium* e *S. floridanum*, os mecanismos responsáveis pela expressão da resistência ainda são desconhecidos. O gene *Sm* está localizado no mesmo cromossomo em que estão situados os genes I e I-2, que conferem resistência a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Assim, variedades resistentes a *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* também são consideradas resistentes a *Stemphylium*, conforme observado por Andrus *et al.* (1942). Nos casos em que foi relatada a quebra da resistência pelo patógeno, o fato estava relacionado ao uso de genótipos segregantes (LATERROT & BLANCARD, 1983).

Além da resistência genética, outros fatores estão envolvidos nos níveis de suscetibilidade do hospedeiro. Entre eles, a produção de α -tomatina, toxina sintetizada por espécies de *Lycopersicon* e algumas solanáceas. Esta toxina encontra-se presente nas folhas, em concentração de até 1 mM, com ação na ligação 3 β - esteróis de hidróxi das membranas dos fungos. No entanto, patógenos como o *S. solani* e *Verticillium dahliae* são tolerantes a α -tomatina, com dosagens acima de 300 μ M (SANDROCK & VANETTEN, 1998).

Durante a infecção determinados patógenos podem secretar enzimas, como as endopoligalacturonases, que degradam a parede celular do hospedeiro. Estudos preliminares indicaram que a toxina do *S. solani* atua na indução da flacidez nos tecidos vegetais, como resultado da interferência dos sistemas de membranas celulares (ZHENG *et al.*, 2010). Contudo, a presença de proteínas inibidoras da poligalacturonase (PGIPs) na parede celular do hospedeiro pode atuar na resistência à doença, retardando a invasão do patógeno, inibindo a sua disseminação e também envolvendo a resposta de defesa da planta, como a hipersensibilidade (JANNI *et al.*, 2008). As endopoligalacturonases compartilham a mesma estrutura que repetições proteicas ricas em leucinas (LRR), genes de resistência de muitas plantas (HUANG *et al.*, 2011), sendo a superexpressão relacionada com a resistência (JANNI *et al.*, 2008). Neste sentido, Di *et al.* (2012) verificaram a distribuição de AtPGIPs e sua expressão induzida pela infecção por *S. solani* em *Arabidopsis*. Os autores, por meio da imunofluorescência, localizaram AtPGIPs distribuídas em folhas, pecíolos, caules e raízes, mas principalmente em epiderme, feixes vasculares e cilindro vascular.

Outro mecanismo de defesa a ser considerado é a geração de espécies ativas de oxigênio, objeto pouco abordado nos ensaios devido a dificuldade de obtenção de uma técnica

precisa. Raros são os trabalhos como o de Bentes & Matsuoka (2005a) que intencionaram localizar o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) associado à parede celular de tomateiro das cultivares 'Motelle' (resistente) e 'Moneymaker' (suscetível), em reposta de defesa ao ataque de *S. solani*. Os autores não observaram reação diferencial entre as cultivares quanto ao acúmulo de H₂O₂. Estes resultados indicam que este composto possivelmente não participe diretamente da resistência manifestada pela cultivar resistente, que é do tipo pós-penetração e está relacionada com as alterações de parede celular e das papilas surgidas nas células do mesófilo. Em outro estudo, Bentes & Matsuoka (2005b) atribuem a colonização intracelular restrita na cultivar resistente à atuação dos mecanismos bioquímicos de resistência em conjunto com as papilas.

2.2.9 Histórico do melhoramento genético do tomateiro

Houve grande avanço nos estudos genéticos do tomateiro, entre os anos de 1940 a 1950, como resultado de eventos sinérgicos simultâneos. Até então, o tomate foi considerado como material menos relevante para a citologia cromossômica. No entanto, acontecimentos do início deste período impulsionaram um rápido progresso no mapeamento do genoma, quando Butler (1952) detectou 35 marcadores. Em 1956, estudos permitiram alocar 45 marcadores em seus respectivos locus e outros 56 nos cromossomos. Em 1963, um estudo revelou 86 locus para 136 marcadores alocados. Essas categorias atingiram 190 de 258 marcadores em 1975. Assim, até ao final do 1960, a estrutura do genoma do tomate tinha sido estabelecida (RICK, 1991).

As pesquisas para identificação de fontes de resistência começaram por volta de 1970 (LATERROT & BLANCARD, 1983). A maioria das espécies de tomateiro é silvestres, ainda não exploradas e apresentam frutos extremamente pequenos, por vezes pubescentes. As espécies silvestres são utilizadas em programas de melhoramento do tomateiro visando a introdução de genes de resistência a pragas e doenças ou que conferem melhor qualidade e valor nutricional aos frutos (LOURENÇÃO *et al.*, 1997; SILVA & GIORDANO, 2000; ARAGÃO *et al.*, 2002).

Neste sentido, MALUF (1994) listou espécies utilizadas em programas de melhoramento como fontes de resistência e outras características desejáveis: *L. esculentum* var *cerasiforme* (resistência a *Xanthomonas vesicatoria*, *Septoria lycopersici*, *Verticillium albo-atrum*); *L. pimpinellifolium* (resistência a *Corynebacterium michiganense*, *Pseudomonas solanacearum*, *Alternaria solani*, *Corynespora cassicola*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Phytophthora infestans*, *Stephylium solani*, nematóide *Heterodera schachtii*, aos vírus *tomato wilt virus* e *tomato yellow leaf curl virus*); *L. cheesmannii* (resistência ao vírus *tomato yellow leaf curl virus* e a salinidade - espécie apresenta alto teor de sólidos solúveis nos frutos); *L. hirsutum* (resistência a *Corynebacterium michiganense*, *Alternaria solani*, *Didymella lycopersici*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Septoria lycopersici*, nematóide *Globodera pallida*, aos vírus *tomato wilt virus* e *tomato yellow leaf curl virus*, resistência aos alguns coleópteros *Leptinotarsa decemlineata* e *Epitrix hirtipennis*, dípteros *Lyriomyza* spp. homópteros *Aphis gossypii*, *Myzus persicae* e *Trialeurodes vaporariorum*, lepidópteros *Heliothis zea*, *Keiferia lycopersicella*, *Manduca sexta*, *Tuta* (syn. *Serobipalpuloides*) *absoluta* e *Spodoptera exigua* e a ácaros *Tetranychus urticae* e *T. cinnabarinum*; *L. chmielewskii* (espécie apresenta alto teor de sólidos solúveis nos frutos); *L. chilense* (resistência a *Trialeurodes vaporariorum* e resistência a seca); *L. peruvianum* (resistência a *Clavibacter michiganense*, *Alternaria solani*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *verticillium dahliae*, *Meloidogyne* spp, Tobacco mosaic virus, cucumber mosaic virus, tomato wilt virus, tomato yellow leaf curl virus, resistência a artrópodes e *Tuta absoluta*) e *L. pennellii* (resistência a artrópodes, a

Tetranychus cinnabarium, *Trialeurodes vaporariorum* e *Tuta absoluta*, resistência a *Fusarium oxysporium*, resistência a seca e salinidade).

O melhoramento para resistência a mancha-de-estenfílio iniciou-se em 1936, nos Estados Unidos, com o programa “United States Regional Vegetable Breeding Laboratory”, o qual visava desenvolver variedades resistentes a diversas causas da desfolha (ANDRUS *et al.*, 1942).

No Brasil, as cultivares como ‘Rei Humberto’, ‘Chacareiro’ e ‘Redondo Japonês’ formaram a base da tomaticultura, por meio de cruzamentos naturais e seleção. E a partir da década de 1930, constituíram a base da tomaticultura brasileira com o surgimento da cultivar ‘Santa Cruz’ (suscetível à mancha-de-estenfílio) e suas seleções mais modernas (ALVARENGA, 2004). Matsuoka & Chaves (1973) publicaram um trabalho testando 48 variedades do banco de germoplasma da Universidade Federal de Viçosa (BGH-UFV) para fonte de resistência a *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (raça 1) e ao *S. solani*. As variedades ‘Viçosa’, ‘São Sebastião’, ‘Vitória’ e ‘Vital’ foram consideradas fontes de resistência às duas doenças. Neste banco de hortaliças da UFV, constam 826 acessos da espécie *L. esculentum*; dois de *L. hirsutum*; quatro de *L. peruvianum*; dois de *L. cheesmani* f. *minor* e dois de *L. pimpinellifolium* (SILVA *et al.*, 2001). Cabe aqui ressaltar, a importância da manutenção de um banco de germoplasma para estudos com melhoramento genético. Estima-se que existam mais de 62.800 acessos de tomate (cultivado e silvestre) mantidos em bancos de germoplasma em torno do mundo (ROSSI *et al.*, 1998). Lembrando, ainda, que espécies selvagens estão presentes em seu centro de origem. Em 2005, Peralta *et al.* (2005) identificaram duas novas espécies de tomates selvagens no Peru, *S. arcanum* e *S. huaylasense*.

No quesito estudos sobre a suscetibilidade do tomateiro ao *S. solani*, Bentes & Matsuoka (2005b) determinaram que a variedade ‘Motelle’ apresentava-se resistente ao patógeno. Paula & Oliveira (2001) selecionaram os genótipos Ohio 4013 e o F₁ (‘Havaii’ X ‘Monense’) para futuros programas de melhoramento. Segundo o levantamento de Reis & Boiteux (2006), nenhum acesso avaliado dentro da espécie *L. pimpinellifolium* foi classificado como resistente - a presença de resistência foi constatada em acessos de *L. peruvianum* e *L. hirsutum* (= *S. habrochaites*), até então desconhecida. Miranda *et al.* (2010) avaliaram a reação de genótipos cultivados e silvestres de tomateiro frente aos isolados de *S. solani* e *S. lycopersici*, sendo identificadas 35 fontes de resistência às duas espécies de *Stemphylium* em genótipos das espécies *S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. peruvianum* e *S. pimpinellifolium*. Os genótipos de *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* resistentes possuem, provavelmente, o gene de resistência *Sm*. No entanto, os genótipos de *S. peruvianum* e *S. habrochaites* podem representar fontes de novos genes/alelos que conferem resistência às duas espécies fúngicas.

Os genótipos de tomateiro apresentam diferentes níveis de resistência, os quais também variam de acordo com as condições ambientais. No Brasil, são citadas como resistentes as variedades ‘Santa Clara’, ‘IPA 5’, ‘Ângela’ e ‘Agrocica 33’ (KUROZAWA & PAVAN, 1997), ‘Avansus’, ‘Kindyo’, ‘Cyntia’ (Hortiagro), ‘EF-50’, ‘Rocio’ (Rogers), ‘Diva’ (Rogers), ‘Densus’, ‘Séculos’, ‘SM-16’, ‘Sweet Gold’ (Sakata) (ALVARENGA, 2004). Conforme informações das empresas produtoras de sementes, as variedades: ‘Sweet Million’ (Sakata), ‘Colibri’ (Clause Tezier), ‘Fanny’ (Seminis), ‘Rodas’ (Seminis), ‘AP509’ (Seminis), ‘Jumbo’ (Horticeres - Seminis), ‘Bonus’ (Topseed), ‘Santa Audélia Super’ (Topseed), ‘Santa Clara Miss Brasil’ (Topseed), ‘Duradora’ (Embrapa Hortaliças), ‘San Vito’ (Embrapa Hortaliças), ‘Facundo’ (Rogers) e ‘Eros’ (Petoseed) também são exemplos de resistência ao patógeno.

Algumas estratégias para apoiar os trabalhos com melhoramento genético também vêm sendo realizados. Aragão *et al.* (2002) aplicaram diferentes protocolos de germinação e manutenção de híbridos interespecíficos (*L. esculentum* x *L. peruvianum*) para melhoria das condições da cultura *in vitro*, bem como a aclimação das plantas germinadas. O uso de

técnicas para regeneração de plantas oriundas de tecidos ou de uma única célula, cultura embrionária, técnicas de fusão celular para espécies não cruzáveis e tecnologia de transformação para introdução gênica auxiliam os melhoristas a estender o acervo dos bancos de germoplasma e com novas fontes ou genes aplicáveis ao tomateiro.

O tomate foi a primeira cultura destinada à alimentação transformada geneticamente a ser comercializada – “Flavr-Savr”, em 1994. O genoma do tomate começou a ser estudado em 2003, pelo “International Solanaceae Genomics Project” (SOL) (MUELLER *et al.*, 2005). As espécies diplóides ($2n=24$ cromossomos) apresentam genoma do tamanho de $2,0 \text{ pg}/2c = 9,5 \times 10^5 \text{ Kb}/1c$ (950 Mbp), o qual é composto por 77% heterocromatina e 23% eucromatina (PETERSON *et al.*, 1996). O genoma foi sequenciado em 2012 (The Tomato Genome Consortium, 2012).

No caso da seleção assistida com marcadores, praticidade e economia são atribuídas ao seu uso. Carelli *et al.* (2006) utilizaram marcadores de RAPD para estimar a variabilidade de 35 acessos de tomate, a técnica promoveu a reprodução de 257 bandas com o uso de 20 primers (78,6% de polimorfismo). Neste estudo, 20 das 23 linhagens brasileiras – oriundas do sul do Brasil (*landraces*) - foram agrupadas, e as cultivares comerciais distribuídas em quatro grupos, sendo as linhagens indicadas como fonte de variação para programas de melhoramento. Apesar dos avanços com a tecnologia com marcadores, Foolad (2007) não concorda que a seleção assistida seja a solução de todos os problemas do melhoramento de tomate. Para o autor, o mais provável é a combinação entre os protocolos tradicionais de reprodução com melhoramento assistido com marcadores para o melhoramento do tomateiro. Cabe aqui lembrar, que para o melhoramento genético tradicional são fundamentais alguns procedimentos como a manutenção do banco de germoplasma ou coleção de acessos e a caracterização destes acessos.

Os principais bancos de germoplasma de tomate no Brasil estão localizados na Universidade de Viçosa, o Banco de Germoplasma de Hortaliças (BGH – UFV) (<http://www.bgh.ufv.br>); na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (PA16 - Banco Ativo de *Germoplasma de Tomate*) com mais 1600 acessos de sete diferentes espécies; no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e na Coleção de Acessos Tomateiro do Departamento de Fitotecnia, pertencente ao Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (IA - UFRRJ). Esta Coleção iniciou-se no final da década de 90 com o intuito de reunir sementes de diferentes procedências e características e também disponibilizá-las para pesquisas voltadas ao desenvolvimento da cultura (SANTOS *et al.*, 2011a). Atualmente, constam catalogados 300 acessos de tomates cerejas e de mesa, procedentes de doações e diversas coletas (SANTOS *et al.*, 2011a). Os acessos ao serem introduzidos no banco de germoplasma recebem a seguinte codificação: a sigla ENA que significa Escola Nacional de Agronomia e “S” para *Solanum*, seguido de mais quatro dígitos numéricos, sendo atribuído o primeiro dígito 1 (um) para designar os acessos pertencentes ao grupo cereja e 2 para os acessos pertencentes aos demais grupos, como salada e italiano; os demais dígitos referem-se a entrada do acesso no banco.

Ao longo do tempo, estes acessos vêm sendo constantemente avaliados quanto à resistência a doenças, qualidade dos frutos e métodos ideais de cultivo. A caracterização ocorre sobre muitos aspectos, como por exemplo, a sua diversidade genética. Rocha *et al.* (2010) caracterizaram 36 acessos de tomate cereja, considerados *heirloom*, com base em descritores qualitativos e quantitativos e também indicaram combinações promissoras para a produção de híbridos de tomate cereja. A divergência genética, entre os acessos estudados (ENAS 1001; ENAS 1002; ENAS 1003; ENAS 1004; ENAS 1005; ENAS 1006; ENAS 1007; ENAS 1008; ENAS 1009; ENAS 1011; ENAS 1012; ENAS 1013; ENAS 1014; ENAS 1015; ENAS 1016; ENAS 1017; ENAS 1018; ENAS 1019; ENAS 1020; ENAS 1021; ENAS 1022; ENAS 1023; ENAS 1024; ENAS 1025; ENAS 1026; ENAS 1027; ENAS 1028; ENAS

1029; ENAS 1030; ENAS 1031; ENAS 2001; ENAS 2002; ENAS 2003; ENAS 2004; ENAS 2005 e ENAS 2006), foi considerável, sobretudo em relação a pragas e doenças. As combinações ‘Samambaia’ x ‘Joanna’ (cultivares comerciais também estudadas), ENAS 2006 x ‘Joanna’ e ENAS 2001 x ENAS 2006 podem resultar em promissores híbridos de tomateiro cereja. Estudos com estes mesmos 36 acessos também foram delineados em outro momento (ROCHA *et al.*, 2009).

Outra abordagem é a investigação sobre a aceitabilidade dos acessos, principalmente dos tomates cereja, por parte dos consumidores. Rocha *et al.* (2013a) avaliaram as características sensoriais dos sete acessos de tomate cereja (ENAS 1008; ENAS 1031; ENAS 1007; ENAS 1013; ENAS 1012; ENAS 1029 e ENAS 1010), considerados promissores de acordo com o estudo de Rocha (2008). Segundo os autores, tomates com coloração vermelha a vermelho rosado e formato redondo são os mais aceitos pelos consumidores e ainda, acessos como o ENAS 1013 e ENAS 1029, que possuem formas (pêra e oblongo) e coloração (amarelo) particulares foram os genótipos mais promissores quanto à inclusão no mercado de consumo. Os acessos ENAS 1012; ENAS 1013; ENAS 1017; ENAS 1019; ENAS 1031; ENAS 1033 e ENAS 1037 também foram avaliados de acordo com a aceitabilidade por parte de consumidores e chefs (ROCHA *et al.*, 2013b).

Muitos dos estudos delineados são direcionados ao manejo orgânico, Costa (2013) estudou 59 acessos de tomateiro cereja (ENAS 1213; ENAS 1214; ENAS 1215; ENAS 1216; ENAS 1217; ENAS 1218; ENAS 1219; ENAS 1154; ENAS 1222; ENAS 1223; ENAS 1224; ENAS 1225; ENAS 1226; ENAS 1227; ENAS 1228; ENAS 1229; ENAS 1007; ENAS 1026; ENAS 1010; ENAS 1016; ENAS 1029; ENAS 1013; ENAS 1012; ENAS 1035; ENAS 1035; ENAS 1036; ENAS 1153; ENAS 1141; ENAS 1057; ENAS 1040; ENAS 1037; ENAS 1077; ENAS 1064; ENAS 1175; ENAS 1126; ENAS 1136; ENAS 1147; ENAS 1009; ENAS 1140; ENAS 1071; ENAS 1015; ENAS 1174; ENAS 1017; ENAS 1031; ENAS 1025; ENAS 1008; ENAS 1144; ENAS 1125; ENAS 1033; ENAS 1121; ENAS 1066; ENAS 1019; ENAS 1043; ENAS 1062; ENAS 1149; ENAS 1065; ENAS 1127; ENAS 1060 e ENAS 1141) visando genótipos produtivos e com resistência a *Phytophthora infestans*; além de verificar a divergência genética dos mesmos. Após ensaios a campo, foram selecionados 12 acessos (ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1057; ENAS 1127; ENAS 1062; ENAS 1144; ENAS 1141; ENAS 1153; ENAS 1227; ENAS 1026; ENAS 1217 e ENAS 1125) mais as cultivares ‘Carolina’; ‘Joanna’; ‘Sweet Grape’ e ‘Perinha Água Branca’, destes em geral, os mais resistentes foram ‘Carolina’, ‘Perinha Água Branca’, ENAS 1026 e ENAS 1217.

Ainda no estudo sobre resistência a requeima do tomateiro, 63 cultivares do banco foram avaliados por Corrêa *et al.* (2009). Santos *et al.* (2011b) avaliaram 15 acessos (ENAS 1213, ENAS 1214, ENAS 1215, ENAS 1216, ENAS 1217, ENAS 1218, ENAS 1219, ENAS 1222, ENAS 1223, ENAS 1224, ENAS 1225, ENAS 1226, ENAS 1227, ENAS 1228 e ENAS 1229), provenientes do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Destes, os acessos ENAS 1228, ENAS 1224, ENAS 1222, ENAS 1213, ENAS 1227, ENAS 1216, ENAS, 1219, ENAS 1225 e ENAS 1217 foram promissores como fonte de resistência parcial a requeima.

As informações obtidas com os estudos no material depositado na Coleção de Acessos de Tomateiro do Departamento de Fitotecnia (IA - UFRRJ) quando agregadas em um banco de informação (Database) constituirão uma importante ferramenta para trabalhos futuros e também direcionamento no melhoramento genético.

3. REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. 948p.
- ALBERONI, G.; COLLINA, M.; LANEN, C.; LEROUX, P.; BRUNELLI, A. Field strains of *Stemphylium vesicarium* with a resistance to dicarboximide fungicides correlated with changes in a two-component histidine kinase. **Eur J Plant Pathol**, v. 128, p. 171–184, 2010.
- ALBERONI, G.; COLLINA, M.; PANCALDI, D.; BRUNELLI, A. Resistance to dicarboximide fungicides in *Stemphylium vesicarium* of Italian pear orchards. **Eur J Plant Pathol.**, v. 113, p. 211–219, 2005.
- ALEXOPOULOS, C. J., MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1996. 880p
- ALVARENGA, M. A. P. **Tomate** – Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: Editora UFLA, 2004. 400p.
- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In.: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.) **Manual de fitopatologia** – Princípios e conceitos, 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, p. 647-671, 1995.
- ANDRUS, C. F.; REYNARD, G. B.; WADE, B. L. Relative resistance of tomato varieties, selections, and crosses to defoliation by *Alternaria* e *Stemphylium*. **US Department of Agriculture**, Circular n. 652, 1942, 23p.
- ARAGÃO, F. A. S.; RIBEIRO, C. S. C.; CASALI, V. W. D.; GIORDANO, L. B. Cultivo de embriões de tomate *in vitro* visando a introgressão de genes de *Lycopersicon peruvianum* em *L. esculentum*. **Hort. Bras.**, v. 20, n. 4, p. 605-610, 2002.
- BASHI, E.; ROTEM, J. Effect of light on sporulation of *Alternaria porri* f. sp. *solani* and of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* *in vivo*. **Phytoparasitica**, v. 3, n. 1, p. 63-67, 1975a.
- BASHI, E.; ROTEM, J. Host and biotic factors affecting sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* on tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* on potatoes. **Phytoparasitica**, v. 3, n. 1, p. 27-38, 1975b.
- BASHI, E.; ROTEM, J. Sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* in potatoes under alternating wet-dry regimes. **Phytopathology**, v. 65, p. 532-535, 1975c.
- BASHI, E.; ROTEM, J.; PUTTER, J. Effect of wetting duration, and of other environmental factors, on the development of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes. **Phytoparasitica**, v. 1, n. 2, p. 87-94, 1973.
- BEBENDO, I. P. Ambiente e doença In.: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Org.) **Manual de fitopatologia** – Princípios e conceitos, 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, p. 331-342, 1995.

BEHARE, J.; LATERROT, H.; SARFATTI, M.; ZAMIR, D. Restriction Fragment Length Polymorphism Mapping of the *Stemphylium* Resistance Gene in Tomato. **Mol. 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, p. 224-231. 2005b.

BENTES, J. L. S.; MATSUOKA, K. Localização de peróxido de hidrogênio durante a resposta de defesa de tomateiro contra *Stemphylium solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 643-646. 2005a.

BLANCARD, D.; LATERROT, H. Les Stemphyliia recontres sus tomate. **Phytopathol. Medit.**, v. 25, p. 140-144, 1986.

BOFF, P. **Epidemiologia e controle químico da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* Webber) e da pinta-preta (*Alternaria solani* (Ellis e Martin, Jones y Grout)) em dois sistemas de condução do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 192f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1988.

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.

BÖRNER, C.; *Solanum* L. und *Solanopsis* gen. **Abh. Naturwiss. Vereine Bremen**, v. 21, p. 282, 1912.

BOSS, M. J.; DAY, D. W. **Air sampling and industrial hygiene engineering**. Florida: CRC press, 2001, 127p.

BRICKELL, C. D.; BAUM, B. R.; HETTERSCHEID, W. L. A.; LESLIE, A. C.; MCNEILL, J.; TREHANE, P.; VRUGTMAN, F.; WIERSEMA, J. H. International code of nomenclature of cultivated plants. **Acta Horticulturae**, v. 647, p. 1-123, 2004.

BUTLER, L. The linkage map of the tomato. **J. Hered.**, v. 43, p. 25-25, 1952

CÂMARA, M. P. S.; O'NEILL, N. R.; BERKUM, P. V. Phylogeny of *Stemphylium* spp. based on ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. **Mycologia**, v. 94, n. 4, p. 660-672, 2002.

CANDOLLE, A. **Origin of cultivated plants**. International scientific series. London :Paul, Trench, v. 49, 1886, 480p. DOI <http://dx.doi.org/10.5962/bhl.title.20259>

CARELLI, B. P.; GERALD, L.T.S.; GRAZZIOTIN, F. G.; ECHEVERRIGARAY, S. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. Revealed by RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 53, p. 395-400, 2006.

CARRER FILHO, R.; ROMEIRO, R. S.; AMARAL, L. S.; GARCIA, F. A. O. Potencialidade de um actinomiceto de rizosfera de tomateiro como agente de biocontrole de doenças. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 340-344, 2009.

CARRER FILHO, R.; ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Biocontrole de doenças de parte aérea do tomateiro por *Nocardioides thermolilacinus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 6, p. 457-460, 2008.

CHILD, A. A synopsis of *Solanum* subgenus *Potatoe* G. Don D'Arcy *Tuberarium* Dun. Bitter. **Feddes Repertorium**, v. 101, n. 5-6, p. 209-235, 1990

COHEN, Y.; ROTEM, J. The relationship of sporulation to photosynthesis in some obligatory and facultative parasites. **Phytopathology**, v. 60, p. 1600-1604, 1970.

CORRÊA, F. M.; BUENO FILHO, J. S. S.; CARMO, M. G. F. (2009), Comparison of three diagrammatic keys for the quantification of late blight in tomato leaves. **Plant Pathology**, v. 58, p. 1128-1133. doi: 10.1111/j.1365-3059.2009.02140.x

COSTA, E. S. P. **Tomate do grupo cereja para cultivo orgânico e resistente à requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary**. 118f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2013.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p.1562-1564, 2009.

CURRENCE, T.M. Tomato breeding. I. Species, origin and botanical characters. **Handbuch der pflanzenzuchtung**, v. 2, p. 351-369, 1963.

DI, C. -D.; ZHANG, H.; SUN, Z. -L.; JIA, H. -L. YANH, L. -N.; SI, J.; AN, L. -Z. Spatial distribution of polygalacturonase-inhibiting proteins in *Arabidopsis* and their expression induced by *Stemphylium solani* infection. **Gene**, v. 506, n. 1, p. 150-155, 2012.

DOMINGUES, D. P. **Etiologia e controle da mancha-de-estenfílio do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no estado do Rio de Janeiro**. 81f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.

DOMINGUES, D. P.; SANTOS, C. A. dos; KOWATA-DRESCH, L. S.; ABOUD, A. C. S.; CARMO, M. G. F. do. Progresso da mancha-de-estenfílio e da requeima em cultivares comerciais de tomateiro sob manejo orgânico. Dados não publicados.

DUSI, A. N.; LOPES, C. A.; OLIVEIRA, C. A. S.; MOREIRA, H. M.; MIRANDA, J. E. C.; JOÃO MARIA CHARCHAR, J. M.; SILVA, J. L. O.; JOSÉ RONALDO MAGALHÃES, J. R. BRANCO, M. C.; REIS, N. V. B.; MAKSHIMA, N. FONTES, R. R.; PEREIRA, W.; HORINO, Y. **A Cultura do tomateiro para mesa**. Brasília: EMBRAPA (coleção plantar), n. 5, 1993, 92p.

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

ESPINOZA, W. **Manual de produção de tomate industrial no Vale do São Francisco**. Brasília: IICA, Escritório no Brasil, 1991. 301p.

FILGUEIRA, J.A. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 412p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, **FAOSTAT**. 2007. Database. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 17.04.2010.

FOOLAD, M. R. Genome Mapping and Molecular Breeding of Tomato. **International Journal of Plant Genomics**, 2007, 52p.

GARDÉ, A.A.A.; GARDÉ, N.V.P.M. **Culturas hortícolas**. Lisboa: Livraria Clássica Editora, 1964. 493 p.

GILBERT, G.; PARKER, I. M. Rapid evolution in a plant-pathogen interaction and the consequences for introduced host species. **Evolutionary Applications**, v. 3, p. 144–156, 2010.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T. **An Introduction to Genetic Analysis**. 7 ed. New York: W. H. Freeman, 2000. Disponível em < Available from:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22090/>>. Acesso em 26 Junho de 2014.

HANNON, C.; WEBER, G. F. A leaf spot of tomato caused by *Stemphylium floridanum* sp. **Phytopathology**, v. 45, p. 11-16, 1955.

HENDRIX, J. W.; FRAZIER, W. A. Studies on the inheritance of *Stemphylium* resistance in tomatoes. **Technical Bulletin**, Honolulu: University of Hawaii, n. 8, 1949, 24p.

HORSFALL, J. G.; BARRAT, R. W. An improved grading system for measuring plant disease. **Phytopathology**, v. 35, p. 655, 1945.

HUSSEIN, M. A. M.; HASSAN, M. H. A; ALLAM, A. D. A.; ABO-ELYOUSR, K. A. M. Management of *Stemphylium* Blight of Onion by using Biological Agents and Resistance Inducers. **Egypt. J. Phytopathol.**, v. 35, n. 1, p. 49-60, 2007.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. On line. Disponível em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br/>> Acesso em: 09.11.2012.

INDERBITZIN, P.; HARKNESS, J.; TURGEON, B. G.; BERBEE, M. L. Lateral transfer of mating system in *Stemphylium*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 102, n. 32, p. 1390–11395, 2005.

JANNI, M.; SELLA, L.; FAVARON, F.; BLECHL, A. E.; DE LORENZO, G.; D’OVIDIO, R. The expression of a bean PGIP in transgenic wheat confers increased resistance to the fungal pathogen *Bipolaris sorokiniana*. **Mol. Plant Microbe Interact.**, v. 21, p. 171–177, 2008.

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.

BLANCA, J.; CAÑIZARES, J.; CORDERO, L.; PASCUAL, L.; DIEZ, M. J.; NUEZ, F. Variation Revealed by SNP Genotyping and Morphology Provides Insight into the Origin of the Tomato. **Plos One**, v. 7, n. 10, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.004819

KIM, B. S.; YU, S. H.; CHO, H. J.; HWANG, H. S. Gray Leaf Spot in Peppers Caused by *Stemphylium solani* and *S. lycopersici*. **Journal of Plant Pathology**, v. 20, n. 2, p. 85-91, 2004.

KIRK, M.; CANNON, P. F.; MINTE, D. W.; STALPERS, J. A. **Dictionary of the Fungi**. Netherlands: CSIRO Publishing, 10. ed., 2008, 784p. Disponível em: CABI databases <<http://www.indexfungorum.org>>. Acesso em 09.out.2012.

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. **Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos (SLACA)**, 4. Campinas, Anais. Campinas: UNICAMP, 2001.

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: Doenças das plantas cultivadas**, v. 2, São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 1997, 705 p.

LATERROT, H.; BLANCARD, D. criblage d'une serie de lignees et d'hybrides F₁ de tomate pour La resistance a La stemphyliose. **Phytopathol. Medit.**, v. 22, p. 188-193, 1983.

LEACH, C. M. Interaction of near ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Helminthosporium* and *Stemphylium*. **Can. J. Bot.** v. 45, p. 1999-2016, 1967.

LINNAEUS, C. **Species Plantarum**, 1st ed. Stockholm: L. Salvius, 1753.

LOURENÇÃO, A.L., NAGAI, H., SIQUEIRA, W.J., USBERTI FILHO, J.A. & MELO, A.M.T. Seleção de tomateiros resistentes a tospovírus. **Bragantia**, n. 56, p. 21-31. 1997.

MALUF, W.R. Melhoramento genético do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Melhoramento Genético de Hortaliças**. Lavras: UFLA, 1994. 189p. (Apostila).

MARANCA, G. **Tomate: variedades, cultivo, pragas e doenças, comercialização**. São Paulo. Nobel, 1981, 158p.

MATSUOKA, K.; CHAVES, G. M. Identificação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, em Minas Gerais e seleção de tomateiros resistentes à raça 1 do patógeno. **Experientiae**, v. 15, n. 10, p. 257-289, 1973.

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, n. 4, p. 703-709, 2001.

MELO, P. C. T. **Melhoramento genético de tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill.)**. Campinas: Asgrow do Brasil Sementes Ltda, 1989. 55p.

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: EMBRAPA Cenargem, 1998. 596p.

MENZIES, S. A.; BANSAL, R. K.; BROADHURST, P. G. Effect of environmental factors on severity of *Stemphylium* leaf spot on asparagus, New Zealand J. Crop and **Hortic. Sci.**, v. 19, v. 2, p. 135-141, 1991.

MILLER, P. 1754. **The gardener's dictionary**, Abridged 4th ed. London: John and James Rivington.

MINAMI, K.; HAAG, H. P. **O Tomateiro**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1989. 397p.

MINUSSI, E.; MACHADO, C. C.; MENTEN, J. O. M.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Effects of different light conditions on the sporulation of *Stemphylium solani* (Weber) in a culture medium. **Fitopatologia Brasileira**, v. 2, p. 167-171, 1977.

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.

MUELLER, L.; TANKSLEY, S.; GIOVANNONI, J.J.; VAN ECK, J. The tomato sequencing project, the first cornerstone of the international solanaceae project (sol). **Comparative and Functional Genomics**, v. 6, p. 153-158, 2005.

MÜLLER, C.H. **A revision of the genus *Lycopersicon***. United States Department of Agriculture Miscellaneous Publication. USDA, Washington, D.C., USA. n. 382, p. 1-28, 1940.

MWAKUTUYA, E. **Epidemiology of stemphylium blight of lentil (*Lens culinaris*) in Saskatchewan**. 79f. MS Thesis, Saskatchewan: University Saskatchewan, 2006.

NAMEKATA, T.; TOKESHI, H. Variabilidade de *Stemphylium solani*, Weber, agente causal de mancha foliar do tomateiro, no estado de São Paulo. **Anais da E.S.A Luiz de Queiroz**, v. 13, p. 273-288, 1967

NASEHI, A.; KADIR, J. B.; ZAINAL ABIDIN, M. A.; WONG, M. Y.; MAHMUDI, F. First report of tomato gray leaf spot disease caused by *Stemphylium solani* in Malaysia. **Plant Disease**, v. 96, n. 8, p. 1226, 2012.

NESBITT, T. C.; TANKSLEY, S. D. Comparative sequencing in the Genus *Lycopersicon* implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. **Genetics**, v. 162, n. 1, p. 365-379, 2002.

NORDSKOG, B.; GADOURY, D. M.; SEEM, R. C.; HERMANSEN, A. Impact of diurnal periodicity, temperature, and light on sporulation of *Bremia lactucae*. **Phytopathology**, v. 97, p. 979-986, 2007.

PARLEVLJET, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Ann. Rev. Phytopath.**, v. 17, p.203-222, 1979.

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

PAULUS, A. D.; 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, 1955.

PEI, Y.-F.; WANG, Y.; GENG, Y.; O'NEIL, N.; ZHANG, X.-G. Tree novel species of *Stemphylium* from Sinkiang, China: their morphological and molecular characterization. **Mycol. Progress**, v. 10, n. 2, p. 163-176, 2010

PERALTA, I.E.; KNAPP, S.; SPOONER, D.M. Nomenclature for wild and cultivated tomatoes. **TGC Report**, v. 56, p. 6-12, 2006.

PERALTA, I.E.; SPOONER, D.M. GBSSI gene phylogeny of wild tomatoes (*Solanum* L. section *Lycopersicon* [Mill.] Wettst. subsection *Lycopersicon*). **American Journal of Botany**, v. 88, p. 1888-1902, 2001.

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

PETERSON, D. G.; STACK, S. M.; PRICE, H. J.; JOHNSTON, J. S. DNA content of heterochromatin and euchromatin in tomato (*Lycopersicon esculentum*) pachytene chromosomes. **Genome**, v. 39, n. 1, p. 77-82, 1996.

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 Pathol. Journal**, v. 9, n. 4, p. 179-187, 2010.

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

REIS, A.; LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. Mancha-de-estenfílio: ressurgimento de um antigo problema do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, n. 41, 2006.

RICK, C. M. **Tomato Paste**: A Concentrated Review of Genetic Highlights From the Beginnings to the Advent of Molecular Genetics. **Genetics Society of America**, v. 128, n. 1, p. 1-5, 1991.

ROCHA, M. C. **Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agronômicas, físicoquímicas e sensoriais**. 191 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal do Paraná, 2008.

ROCHA, M.C.; DELIZA, R.; CARMO, M. G. F. do; CORRÊA, F. M.; ABBOUD, A. C. S. A study to guide breeding of new cultivars of organic cherry tomato following a consumer-driven approach. **Food Research International**, v. 51, p. 265-273, 2013a. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.12.01

ROCHA, M.C.; DELIZA, R.; ARES, G.; FREITAS, D. G. C. de; SILVA, A. L. S.; CARMO, M. G. F. do; ABBOUD, A. C. S. Identifying promising accessions of cherry tomato: a sensory strategy using consumers and chefs. **J Sci Food Agric.**, v. 93, p. 1903–1914, 2013b.

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; SILVA, P. R. A. da. CARMO, M. G. F. do.; ABBOUD, A. C. S. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 423-431, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v32i3.4888>

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, L. S. A.; CORRÊA, F. M.; RODRIGUES, R.; SILVA, S. L. ABBOUD, A.C.S.; CARMO, M. G. F. do. Descritores quantitativos na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. **Ciência Rural**, v. 39, p. 664-670, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008005000092>

ROSSI, M.; GOGGIN, F. L.; MILLIGAN, S. B.; KALOSHIAN, I.; ULLMAN, D. E.; WILLIAMSON, V. M. The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 17, p. 9750–9754, 1998.

ROTEM, J. **The Genus Alternaria: biology, epidemiology, and pathology**. American Phytopathological Society Press, St Paul, 1994.

ROTEM, J.; BASHI, E. A review of the present status of the *Stemphylium solani* in tomato foliage. **Phytoparasitica**, n. 5, v. 1, p. 45-48, 1977.

ROTEM, J.; COHEN, Y.; BASHI, E. Host and environmental influences on sporulation *in vivo*. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 16, 83-101, 1978.

SANDROCK, R.W.; VANETTEN, H.D. Fungal Sensitivity to and Enzymatic Degradation of the Phytoanticipin α -Tomatine. **Phytopathology**, v. 88, n. 2, p. 137-143, 1998.

SANTOS, C. A.; COSTA, E. S. P.; ROCHA, M. C.; CARMO, M. G. F. do. Catalogação e multiplicação de sementes do Banco de Germoplasma de tomateiro do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ. In: XXI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, 2011, Seropédica. **Anais da ... Jornada de Iniciação Científica**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica: EDUR, v. 1, p. 1-2, 2011a.

SANTOS, C. A.; SOUZA, V K ; COSTA, E. S. P.; CARMO, M. G. F. do. Caracterização de novos acessos do banco de germoplasma de tomateiro quanto a resistência à requeima. In: XXI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, 2011, Seropédica. **Anais da ... Jornada de Iniciação Científica**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica: EDUR, v. 1, p. 1-2, 2011b.

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

Secretaria de Agricultura e Abastecimento – SEAB. 2012. *Agrotóxicos*. Disponível em: <http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/>. Acesso em: 20.set.2014.

SEDIYAMA, M. A. N.; FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. Práticas culturais adequadas ao tomateiro. **Informe Agropecuário**, v. 24, p. 19-25, 2003.

SHISHKOFF, N.; LORBEER, J.W. Etiology of *Stemphylium* leaf blight of onion. **Phytopathology**, v. 79, p. 301–304, 1989.

SILVA, D. J. H.; MOURA, M. C. C. L.; CASALI, V. W. D. Recursos genéticos do banco de germoplasma de hortaliças da UFV: Histórico e expedições de coleta. **Horticultura Brasileira**, v. 19, n. 2, p. 108-114, 2001.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; CARRER FILHO, R.; PEREIRA, J. L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; MOUNTEER, A. Induction of Systemic Resistance by *Bacillus cereus* Against Tomato Foliar Diseases Under Field Conditions. **J. Phytopathology**, v. 152, p. 371–375, 2004b.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MACAGNAN, D. HALFELD-VIEIRA, B. A.; PEREIRA, M. C. B.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. **Biological Control**, v. 29, p. 288–295, 2004a.

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

SIMMONS, E. C. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. **Mycologia**, v. 59, p. 67-98, 1967.

SIMMONS, E.G. **Perfect states of Stemphylium**. New York: Mycologia, v. 61, n. 1, p. 1-26, 1969.

SPOONER, D.M., I. PERALTA, AND S. KNAPP. Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes *Solanum* L. section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.]. **Taxon**, v. 54, p. 43-61, 2005.

SPOONER, D.M.; HETTERSCHIED, W.L.A.; VAN DEN BERG, R.G.; BRANDENBURG, W. Plant nomenclature and taxonomy: an horticultural and agronomic perspective. **Horticultural Reviews**, v. 28, p. 1-60, 2003.

STEVENS, M.A.; RICK, C.M. Genetics and breeding, In: J. G. Atherton and J. Rudich editors. **The tomato crop**. Chapman and Hall, London, UK. p. 35-109, 1986.

SUHERI, H.; PRICE, T.V. The epidemiology of purple leaf blotch on leeks in Victoria, Australia. **Eur. J. Plant Pathol.**, v. 107, p. 503-510, 2001.

THE TOMATO GENOME CONSORTIUM. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. **Nature**, v. 485, p. 635-641, 2012. doi:10.1038/nature11119

TOURNEFORT, J.P.de. 1694. **Elemens de Botanique**. Paris: l'Imprimerie Royale.

VALE, F. X. R. do; JESUS JUNIOR, W. C. de; LIBERATO, J. R.; SOUZA, C. A. de. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In.: VALE, F. X R. do; JESUS JUNIOR, W. C. de; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perffil, p. 89-124, 2004.

WALTER, J. M. Hereditary resistance to disease in tomato. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 5, p. 131-160, 1967.

WANG, Y.; GENG, Y.; PEI, Y. F.; ZHANG, G. -X. Molecular and morphological description of two new species of *Stemphylium* from China and France. **Mycologia**, v. 102, n. 3, p. 708-717, 2010.

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

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

WELLS, H. D.; FORBES, I.; MARKHAM, C. R. A. A black, readily sporulating mutant of *Stemphylium solani* susceptible biotypes of blue lupine. **Phytopathology**, v. 61, p. 575-577, 1971.

WILTSHIRE, S. P. The original and modern conception of *Stemphylium*. **Brit. Mycol. Soc. Trans.**, v. 21, p. 211-239, 1938.

ZHANG, N.; MCCARTHY, M. L.; SMART, C. D. A microarray system for the detection of fungal and oomycete pathogens of solanaceous crops. **Plant Dis.**, v. 92, p. 953-960, 2008.

ZHENG, L.; RUJING, 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.

CAPITULO I

Desenvolvimento *in vitro* de *Stemphylium solani* sob diferentes condições de temperatura, período de molhamento e fotoperíodo

RESUMO

O aumento da ocorrência da mancha-de-estenfílio, nas principais regiões produtoras de tomate do Brasil, impulsiona a necessidade de estudos sobre o patossistema. Existem poucas informações sobre este patossistema e muitas destas são antigas. Somado a isto, são recorrentes os relatos sobre a dificuldade de produção de conídios de *Stemphylium* sp. *in vitro*. O intuito deste trabalho foi estudar as diferentes fases de desenvolvimento do *Stemphylium solani* (determinando as condições ótimas para cada fase) em laboratório e também obter informações que tornem o protocolo de produção de conídios do fungo mais eficiente. A germinação dos conídios de dois isolados de *S. solani* (SENA302 e SENA101) foi estudada em três ensaios. No primeiro foram testadas diferentes condições de temperatura (10; 15; 20; 25; 28; 30 e 35°C) combinadas com três períodos de molhamento (4; 8 e 12 horas), no escuro. Fixado a condição de 25°C no escuro, no segundo ensaio, a germinação foi verificada nos períodos de 2; 4; 6; 8; 12; 16; 20 e 24 horas de molhamento. Para o terceiro ensaio estabeleceu-se a condição de 25°C com seis horas de molhamento e estudou-se o efeito do fotoperíodo (0; 6; 12; 18 e 24 horas de escuro) na germinação de conídios. O crescimento micelial e a produção de conídios foram avaliados nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo acima citadas. Em relação ao processo germinativo, a máxima germinação no primeiro ensaio foi estimada à 23°C (96,91%) para o isolado SENA302 e 24,5°C (95,95%) para o isolado SENA101, em ambos os casos com 12 horas de molhamento. A máxima emissão de tubos germinativos por conídio foi estimada a 23,5°C para SENA302 (3,9) e 26,5°C para SENA101 (2,4). O maior número de tubos emitidos do isolado SENA302 pode indicar maior patogenicidade deste isolado. O máximo comprimento do tubo germinativo foi estimado a 23,5°C (188,74 µm). Entre as temperaturas testadas, optou-se por fixar 25°C no ensaio seguinte. No segundo ensaio, o período de seis horas de molhamento foi o suficiente para a ocorrência de 50% de germinação, e a estabilização da germinação e emissão dos tubos germinativos ocorreu com 16 horas de molhamento. Para o ensaio seguinte, fixaram-se as condições de 25°C e seis horas de molhamento. A emissão de tubos germinativos apresentou uma tendência de aumento em função da quantidade de horas de escuro. O máximo crescimento micelial e produção de conídios foram estimados a 24,4°C com luminosidade contínua e a 15,6°C com 15,84 horas de escuro (1,74 conídios mm⁻²) para SENA302 e 25,6°C com luminosidade contínua e 18°C com 15,84 horas de escuro (1,62 conídios mm⁻²) para SENA101. Assim, preconiza-se para produção de conídios, o uso das temperaturas de 25 e 15°C, para favorecer o crescimento micelial e a esporulação, respectivamente. E ainda, o uso alternado de luminosidade e do isolado SENA302 por ser o que mais esporula.

Palavras-chaves: etiologia, esporulação, mancha-de-estenfílio, tomate

4. INTRODUÇÃO

A cultura do tomate (*Solanum lycopersicum*) é atacada por inúmeras doenças, entre elas, a mancha-de-estenfílio, a qual pode acarretar na redução da área fotossinteticamente ativa e, conseqüentemente, queda na produção (KUROZAWA & PAVAN, 1997). A ocorrência desta doença em tomateiro é atribuída a quatro espécies: *S. solani* Weber, *S. lycopersici* (Enjoji) W. Yamamoto (syn. *S. floridanum* Hannon & G. F. Weber), *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* Wallr. e *S. vesicarium* (Wallr) Simmons. No Brasil, foram relatadas como causadoras da mancha-de-estenfílio as espécies *S. lycopersici* e *S. solani*, esta última com maior ocorrência nas lavouras de tomate devido a sua adaptação a temperaturas mais elevadas (SANTOS, 1995) e a maior gama de hospedeiros (REIS & BOITEUX, 2006).

Os sintomas da mancha-de-estenfílio são caracterizados por pintas pequenas, irregulares, às vezes circulares, ligeiramente deprimidas, com coloração marrom-acinzentada a preta, as quais se tornam rapidamente necróticas e circundadas por halo clorótico, com 1 a 10 mm de diâmetro, frequentemente, rompidas ao atingir seu tamanho máximo (ROTEM & BASHI, 1977). O tamanho das lesões e sua frequência nas folhas podem variar de acordo com o genótipo infectado e fatores ambientais (HENDRIX & FRAZIER, 1949).

Em relação às condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, na literatura consta que para um processo germinativo bem sucedido são necessárias duas horas em presença de um filme de água, sendo a faixa de temperatura favorável 25 a 28°C (KUROZAWA & PAVAN, 1997). Segundo Kim *et al.* (2004), isolados de *S. solani* provenientes de pimenta apresentam ótima germinação e crescimento micelial a 25°C, não apresentando desenvolvimento das hifas a 5 e 35°C. Rahman *et al.* (2010) verificaram que o maior crescimento micelial de *S. botryosum* também ocorre a 25°C. No que tange ao processo de esporulação, a mesma é inibida por condições de luminosidade contínua, os conidióforos são formados, mas os conídios não se desenvolvem (MINUSSI *et al.*, 1977). No hospedeiro, o *S. solani* coloniza rapidamente o tecido e os sintomas são visíveis dois a três dias após a inoculação e os conídios produzidos após igual período (ROTEM & BASHI, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Além de poucos, os estudos sobre o efeito do ambiente em *S. solani*, oriundo de plantas de tomateiro, são antigos. E ainda, há a necessidade de se pesquisar isolados coletados de regiões mais quentes, como o Brasil e se estes apresentam comportamento distinto daqueles provenientes de clima mais ameno. A maioria dos estudos com diferentes condições ambientais com espécies de *Stemphylium* está restrita aos Estados Unidos, Europa e China (KIM *et al.*, 2004; MENZIES *et al.*, 1991; MONTESINOS *et al.*, 1995; MWAKUTUYA & BANNIZA, 2010). Aliado a isto, há dificuldade de se produzir esporos do patógeno *in vitro*, problema este levantado por muitos autores ou representada nos artigos pelos diferentes métodos de produção de inóculo utilizados (NAMETAKA & TOKESHI, 1967; WELLS *et al.*, 1971; MIRANDA, 2009; DOMINGUES, 2012).

Tendo em vista o panorama acima mencionado, este trabalho tem como objetivos estudar as condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, *in vitro* e obter informações sobre a produção de conídios de *S. solani*. Para isto, serão determinadas as condições ótimas de temperatura, umidade e fotoperíodo para germinação dos conídios, emissão e crescimento dos tubos germinativos, bem como as condições ótimas de temperatura e fotoperíodo para o crescimento micelial e a esporulação.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dois isolados de *S. solani*, SENA302 - procedente de uma lavoura comercial convencional de tomate 'Forty' no município de Paty do Alferes-RJ localizada a 22° 25' 10" S, 43° 25' 21" O, 624 metros de altitude (Clima subtropical úmido - Cfa) e SENA101 - procedente de plantas do acesso ENAS 1136 cultivadas em uma área experimental orgânica de Seropédica-RJ localizada a 22° 44' 29" S, 43° 42' 19" O (Clima tropical com estação seca - Aw), pertencentes à coleção do laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

5.1. Efeito da temperatura e período de molhamento no processo germinativo (ensaio 1)

O cultivo e a produção dos conídios foi feito em placas de Petri contendo meio V8 CaCO₃ ágar (200 mL suco V8, 17 g Agar, 800 mL de água destilada e 3 g de CaCO₃ - DIENER, 1952) e incubadas em câmara de crescimento regulada para 12 h de fotoperíodo e temperatura de 25 ± 2°C por 10 dias seguido de 15 ± 2°C por mais cinco dias. As suspensões contendo 10⁴ conídios mL⁻¹ foram obtidas pela adição de água destilada esterilizada (ADE) nas placas contendo as culturas, seguida de raspagem superficial com pincel, agitação em vortex por 30 segundos, filtragem em gaze e contagem em hemacitômetro.

Foram depositadas alíquotas de 10 µL de suspensão contendo 1x10⁴ conídios mL⁻¹ no centro de lâminas de vidro (26 x 76 mm) seguido de incubação em câmaras de crescimento reguladas para diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25, 28, 30 e 35°C) e três tempos de molhamento (4, 8 e 12 horas), no escuro. Para evitar a perda de umidade, as lâminas foram acomodadas em caixas plásticas transparentes (11,5 x 11,5 cm) contendo duas folhas de papel germitest umedecido com 20 mL de ADE e nestas condições mantidas por até quatro, oito e 12 horas. Após os respectivos períodos, as lâminas foram expostas à ventilação por 30 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente 28°C) para evaporação do excesso de água, reacomodadas nas caixas, sem as folhas de papel umedecido, e retornadas para as respectivas temperaturas, no escuro, até completarem 24 horas de incubação (adaptado de SOARES *et al.*, 2008). Após as 24 horas, interrompeu-se o processo com a adição de 10 µL de lactofenol em cada lâmina e iniciaram-se as avaliações pela determinação da (o): porcentagem de germinação, número de tubos germinativos e comprimento médio dos tubos germinativos dos conídios (µm). A porcentagem de germinação e o número de tubos germinativos foram avaliados em amostra de 100 conídios por lâmina. O comprimento dos tubos germinativos foi medido em cinco conídios por lâmina. Considerou-se como germinado aqueles conídios que possuíam tubo germinativo igual ou maior ao seu comprimento. O comprimento dos tubos germinativos foi determinado com auxílio do programa Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH (2006).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x7x3, sendo dois isolados, sete temperaturas e três períodos de molhamento, totalizando 42 tratamentos, nove repetições para as variáveis porcentagem de germinação e número de tubos germinativos emitidos e quatro repetições para comprimento do tubo germinativo. Os dados foram submetidos à análise de variância. E em caso de diferença estatística entre os fatores foram construídas curvas e os modelos matemáticos determinados (regressão). Também foram determinados os pontos de máxima germinação, emissão de tubos germinativos e comprimento dos conídios, este procedimento foi adotado nos demais ensaios. Para a análise estatística utilizou-se o programa R (2005).

5.2 Efeito do período de molhamento no processo germinativo (ensaio 2)

Os requerimentos mínimos e a resposta de *S. solani* à umidade foram avaliados em um segundo ensaio com oito diferentes períodos de molhamento: 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 e 24 horas. De acordo com os dados obtidos no ensaio anterior, foi fixada a temperatura de 25°C para incubação, no escuro. Foi utilizada a mesma metodologia descrita para o ensaio 1, para a instalação deste ensaio. O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x8, sendo dois isolados e oito períodos de molhamento, com seis repetições por tratamento sendo cada lâmina uma parcela. Para avaliação do comprimento do tubo germinativo utilizaram-se quatro repetições.

5.3 Efeito do fotoperíodo no processo germinativo (ensaio 3)

Para avaliar a resposta de *S. solani* ao fotoperíodo testaram-se cinco regimes de fotoperíodo: i) 0 hora de escuro + 24 horas de claro; ii) seis horas de escuro + 18 horas de claro; iii) 12 horas de escuro + 12 horas de claro; iv) 18 horas de escuro + 6 horas de claro e v) 24 horas de escuro + 0 hora de claro. A condição de luminosidade foi fornecida por três lâmpadas fluorescentes de 15 watts dispostas no interior da câmara de crescimento. Para a condição de escuro as caixas plásticas foram envoltas com papel Kraft. Após o período pré-determinado na ausência de luz, as caixas gerbox foram descobertas e assim permaneceram até completar o período de 24 horas.

A mesma metodologia descrita para o ensaio 1 foi utilizada, com incubação a 25 °C e seis horas de molhamento, sendo esta última condição fixada a partir dos resultados do ensaio 2. O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x5, dois isolados e cinco regimes de luz, com seis repetições compostas por uma lâmina cada. Para determinação do comprimento do tubo germinativo utilizaram-se quatro repetições.

5.4 Efeito da temperatura e fotoperíodo no crescimento micelial e produção de conídios (ensaio 4)

Os isolados SENA302 e SENA101 foram cultivados em placas de Petri contendo meio V8 CaCO₃ ágar (DIENER, 1952) e incubados a 25 ± 2°C, com 12 h de fotoperíodo durante 10 dias. Após este período, discos de micélio localizados na borda da colônia foram retirados para a instalação do ensaio.

Para avaliar o efeito da condição ambiente no crescimento micelial, discos de micélio (0,5 cm de diâmetro) foram repicados para o centro de placas de Petri contendo meio V8 CaCO₃ ágar + pentabiótico (DIENER, 1952). Em seguida, as placas foram acomodadas em câmaras de crescimento reguladas para oito diferentes temperaturas, 10, 15, 20, 25, 28, 30, 35 e 40°C e cinco diferentes regimes de fotoperíodo: i) 0 hora de escuro + 24 horas de claro; ii) seis horas de escuro + 18 horas de claro; iii) 12 horas de escuro + 12 horas de claro; iv) 18 horas de escuro + 6 horas de claro e v) 24 horas de escuro + 0 hora de claro. A condição de luminosidade foi fornecida por três lâmpadas fluorescentes de 15 watts dispostas no interior da câmara de crescimento.

O crescimento micelial foi determinado por medições diárias do diâmetro das colônias, duas medidas perpendiculares, durante 10 dias. Os dados foram integralizados no tempo para determinação da Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial (AACCM) (SHANER & FINNEY, 1977). A produção de conídios foi contabilizada no 15º dia com a adição de 5 mL de ADE por placa e leves raspagens com auxílio de pincel macio. O líquido foi recolhido e homogeneizado em agitador Vortex e a concentração determinada por contagens em hemacitômetro, em total de cinco amostras por placa. Neste momento, o

diâmetro da colônia foi medido para calcular a área da mesma. Os dados foram expressos em número de conídios mm^{-2} de colônia.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 8 \times 5$, sendo dois isolados, oito temperaturas e cinco regimes de fotoperíodo, e cinco repetições compostas por uma placa cada. Os dados foram submetidos à análise de variância, em caso de efeito estatístico significativo entre os fatores foram construídas curvas e os modelos matemáticos determinados, com o software R development Core Team (2005). Também foram determinados os pontos de máximo crescimento micelial e esporulação.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Efeito da temperatura e período de molhamento no processo germinativo (ensaio 1)

Os conídios de ambos os isolados de *S. solani* germinaram em todas as temperaturas testadas (10, 15, 20, 25, 28, 30 e 35°C), porém, com efeito significativo da interação entre o período de molhamento e a temperatura (Tabela 1 e Figura 1). A capacidade de germinação dos conídios deste fungo em uma ampla faixa de temperatura também foi reportada por outros autores. Segundo Kim *et al.* (2004), as espécies *S. solani* e *S. lycopersici* germinaram entre 15 a 35°C. Neste sentido, Rahman *et al.* (2010) verificaram que a faixa de germinação do *S. botryosum* foi de 5 a 35°C para isolados coletados de lentilha. Para Mwakutuya & Banniza (2010) a germinação de *S. botryosum* também provenientes de lentilha ocorreu entre as temperaturas de 5 a 30°C.

A faixa de temperatura mais favorável à germinação dos conídios de ambos os isolados variou entre 15 e 30°C com efeito positivo do aumento no período de molhamento. O modelo matemático estimou a máxima germinação na temperatura de 23°C para o isolado SENA302 (96,91%) e de 24,5°C para o isolado SENA101 (95,95%) (Tabela 2 e Figura 1A e B). De forma geral, a germinação dos conídios do isolado SENA302 foi favorecida por temperaturas menores que a requerida pelos conídios de SENA101. Para ambos os isolados, a maior porcentagem de germinação foi observada na maior duração de molhamento testado, 12 horas. Apesar da capacidade de germinação em ampla faixa de temperatura, o *S. solani* apresentou comportamento distinto em cada temperatura, sendo o processo germinativo mais favorecido a 25°C, entre as temperaturas testadas. Resultados similares foram encontrados para *Colletotrichum cocodes* (Wallr.) S. J. Hughes (DILLARD, 1988), *Oidium neolycopersici* (JACOB *et al.*, 2008), *Phakopsora euvitis* (NARUZAWA *et al.*, 2006) e *S. solani* e *S. lycopersici* (KIM *et al.*, 2004). Na literatura consta que, em relação à variável ambiental temperatura, a faixa favorável para germinação do *S. solani* está entre 25 e 28°C (LEACH, 1967). Segundo Mwakutuya & Banniza (2010) as temperaturas de 25 e 30°C são as mais favoráveis para a germinação de *S. botryosum*.

O maior período de molhamento testado, 12 horas, também fomentou a emissão de tubos germinativos, especialmente nos conídios do isolado SENA302 que se destacou pelo maior número de tubos germinativos que o isolado SENA 101 (Figura 1C e D). Alguns pesquisadores relacionam esta variável com a patogenicidade do fungo. Latgé *et al.* (1982) correlacionaram a patogenicidade de isolados de *Conidiobolus obscurus*, utilizado no controle biológico de *Acyrtosiphon pisum*, com produção de tubos germinativos pelos conídios primários germinados. Observou-se efeito significativo de isolado, período de molhamento e temperatura e interação entre estes (Tabela 1). A temperatura ótima para emissão de tubos germinativos foi de 23,5°C para SENA302 (3,9 tubos.conídio⁻¹) e 26,5°C para SENA101 (2,4 tubos. conídio⁻¹) e redução nas temperaturas extremas, 10, 15 e 35°C (Tabela 2 e Figura 1C e D).

Tabela 1. Análise de variância para efeito da temperatura (T), período de molhamento (PM), isolado (IS) e fotoperíodo (F) no processo germinativo de *Stemphylium solani* (isolado SENA302 e SENA101).

Fonte de Variação	de GL	QM		de GL	QM
		Germinação	Tubo germinativo		Comprimento tubo germinativo
Ensaio 1: Temperatura x período de molhamento x isolado ¹					
T	1	23903,98*	29,29*	1	28915,62*
PM	1	33567,09*	14,88*	1	138482,58*
IS	1	529,85	38,31*	1	1647,32
T:PM	1	3,35	0,00	1	6077,30
T:IS	1	2595,06*	0,01	1	10,64
PM:IS	1	41,4	2,67*	1	3976,04
IS:I (T ²)	2	75676,18*	36,74*	2	81605,22*
PM:I (T ²)	1	1388,56*	3,69*	1	62317,80*
T:PM:IS	1	126,89	0,10	1	1632,60
PM:IS:I (T ²)	1	846,02*	2,93*	1	1434,67
Erro	366	144,92	0,47	156	2342,61
Ensaio 2: período de molhamento x isolado ²					
PM	1	51938,05*	31,55*	1	261508,18*
IS	1	278,12	8,37*	1	1224,91
IS (PM ²)	1	14421,86*	11,27*	1	99521,74*
PM:IS	1	4,08	1,34*	1	717,86
IS:I (PM ²)	1	48,06	0,61	1	6546,38
Erro	90	173,13	0,34	58	4095,17
Ensaio 3: Fotoperíodo x isolado ³					
F	1	14,91	2,42*	1	1,07*
IS	1	93,50	0,02	1	3,66*
IS(F ²)	1	6,37	0,41	1	0,004
F:IS	1	34,58	0,40	1	0,58*
IS:I(F ²)	1	7,48	0,00	1	0,09
Erro	54	56,68	0,18	34	0,07

QM.: Quadrado médio. *5% de probabilidade de erro.

¹Condição: T: 10; 15; 20; 25; 28 e 30°C, PM: 4; 8 e 12 horas, no escuro. ²Condição: PM: 2; 4; 6; 8; 12; 16; 20 e 24 horas, 25°C no escuro. ³Condição: F: 0, 6, 12, 18 e 24 horas de escuro; 25°C com seis horas de molhamento.

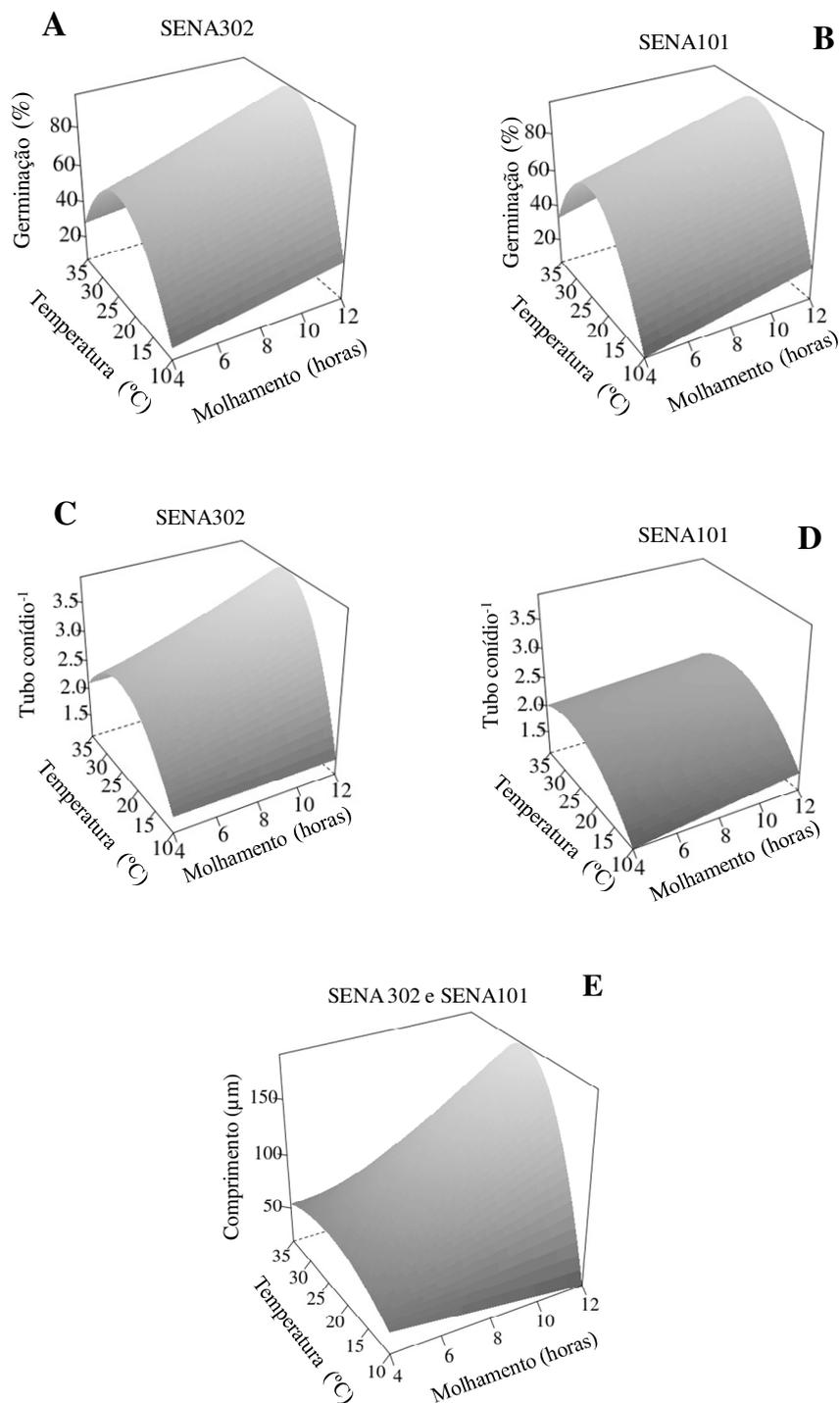


Figura 1. Efeito da temperatura (°C) e do período de molhamento (horas) na germinação (%) (A e B), número (C e D) e comprimento (E) de tubo germinativo de dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA101), mantidos no escuro.

Tabela 2. Equações estimadas para ajuste dos dados do processo germinativo dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA101) em função da temperatura e período de molhamento (ensaio 1), do período de molhamento (ensaio 2) e fotoperíodo (ensaio 3), e do crescimento micelial e da esporulação em função da temperatura e fotoperíodo (ensaio 4) e respectivos pontos de máxima.

		Equação	Ponto de máxima			
			Y _{max.}	T	PM	F
Ensaio 1	Y ^{GER} SENA302	$= -73.862 + 10.001 * T - 4.123 * PM + 0.7639 * PM * T - 0.2064 * T^2 - 0.642 * PM * T^2$	96,9	23,0	12,0	--
	Y ^{GER} SENA101	$= -120.24 + 14.81 * T - 1.26 * PM + 0.1217 * PM * T - 0.3077 * T^2 - 0.002 * PM * T^2$	95,9	24,5	12,0	--
	Y ^{TG} SENA302	$= 0.3233 + 0.1275 * T - 0.338 * PM + 0.0433 * PM * T - 0.0022 * T^2$	3,9	23,5	12,0	--
	Y ^{TG} SENA101	$= -0.502 + 0.174 * T + 0.0274 * PM + 0.00176 * PM * T - 0.0029 * T^2$	2,4	26,5	12,0	--
	Y ^{COMP}	$= 142.55 - 12.20 * T - 39.00 * PM + 4.64 * T * PM - 0.0099 * PM * T^2$	188,7	23,5	12,0	--
Ensaio 2	Y ^{GER}	$= 3.946 + 10.335 * PM - 0.2801 * PM^2$	99,28	--	18,45	--
	Y ^{TG} SENA302	$= 0.4151 + 0.3410 * PM - 0.009 * PM^2$	3,64	--	18,94	--
	Y ^{TG} SENA101	$= 0.5844 + 0.2158 * PM - 0.006 * PM^2$	2,52	--	17,98	--
	Y ^{COMP}	$= -41.9759 + 31.7775 * PM - 0.9013 * PM^2$	238,12	--	--	--
Ensaio 3	Y ^{TG}	$= 2.318 + 0.023681 * F$	--	--	--	--
	Y ^{COMP} SENA302	$= 119,1 + 6,083 * F$	--	--	--	--
	Y ^{COMP} SENA101	$= 93,35 + 0,48 * F$	--	--	--	--
Ensaio 4	Y ^{AACCM} SENA302	$= -0,042 + 64,5 * T + 38,9 * F - 1,89 * F^2 - 1,30 * T^2 - 3,85 * T * F$	394,0	24,4	--	0,0
	Y ^{AACCM} SENA101	$= -0,037 + 59,9 * T + 26,3 * F - 1,62 * F^2 - 1,17 * T^2 + 0,14 * T * F^2$	393,0	25,2	--	0,0
	Y ^{ESP} SENA302	$= 1.235 - 8.594e-02 * T - 3.205e-01 * F + 1.290e-02 * F^2 + 4.371e-02 * T * F$	1,7	15,6	--	15,8
	Y ^{ESP} SENA101	$= 7.538e-01 - 3.177e-02 * T - 2.683e-01 * F + 9.824e-03 * F^2 + 2.832e-02 * F * T - 1.073e-03 * T * F^2$	1,6	18,0	--	15,8

GER = Germinação (%); TG = número de tubos germinativos por conídio; COMP = comprimento dos tubos germinativos (µm); AACCM: Área Abaixo do Curva do Crescimento Micelial; ESP = Esporulação (conídios mm⁻²); T = Temperatura (°C); PM = horas de molhamento; F = Fotoperíodo expresso em horas de escuro. Condições: Ensaio 1 (T: 10; 15; 20; 25; 28 e 30°C, 4; 8 e 12 horas de molhamento, no escuro); Ensaio 2 (PM: 2; 4; 6; 8; 12; 16; 20 e 24 horas, 25°C no escuro); Ensaio 3 (F: 0, 6, 12, 18 e 24 horas de escuro; 25°C com seis horas de molhamento) e Ensaio 4 (T: 10; 15; 20; 25; 28 e 30°C e F: 0, 6, 12, 18 e 24 horas de escuro).

Não houve diferença entre os isolados quanto ao comprimento dos tubos germinativos (Tabela 1), diferente do observado para as variáveis anteriores, e as respostas destes às variações de temperatura e período de molhamento estão representados em um único modelo (Figura 1E e Tabela 2). O ponto de máximo comprimento do tubo germinativo foi 188,739 μm , observado com 12 horas de molhamento e 23,5°C de temperatura. Os valores mais extremos de temperatura, 10, 15 e 35°C, reduziram significativamente o alongamento das hifas e este efeito foi mais acentuado na condição ideal de molhamento, 12 horas, comparado às demais condições. Temperaturas próximas de 25°C também fomentaram o crescimento dos tubos germinativos para urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd (21,00 a 24,37°C) (BONDE *et al.*, 2007) e *Peronosclerospora sorghi* (20 e 33°C) (BOCK *et al.*, 1999).

Uma particularidade levantada neste experimento foi a predileção do isolado SENA302 por temperaturas mais baixas do que o isolado SENA101. A máxima germinação e emissão de tubos germinativos do SENA302 ocorreram a 23°C e 23,5°C, enquanto que do SENA101 a 24,5°C e 26,5°C, respectivamente. Este dado pode estar relacionado com o local de origem do isolado, SENA302 obtido em Paty do Alferes e SENA101 em Seropédica. Embora ambos os municípios pertençam ao estado do Rio de Janeiro, são caracterizados por possuírem altitudes (Paty do Alferes – 610 m e Seropédica - 26 m) e clima (mais ameno em Paty do Alferes) diferentes. Neste sentido, Cowling *et al.* (1981) constataram que nos Estados Unidos da América, o *S. botryosum* patógeno da alfafa é subdividido em dois biótipos, os quais diferem em temperatura ótima e sintomas. As temperaturas mais baixas (18 a 20°C) favorecem o biotipo C-T que infecta a cultura principalmente na primavera e outono, já as temperaturas mais elevadas (23 a 27°C), beneficiam o biotipo W-T, o qual ocorre prevalentemente na região leste do país.

Em relação ao local de origem do material, Mehta (2001) verificou que isolados de *S. solani* coletados de algodão e tomate apresentaram grande variação, a qual estava relacionada com variação geográfica e não especialização do hospedeiro. Bouamama *et al.* (2010) verificaram que a germinação e a virulência de conídios de *Isaria fumosorosea*, isolado da larva de *Scotiaipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) coletada em área de clima temperado (Ile-de-France), quando mantidos em condições de clima árido e subtropical foram afetados negativamente quando comparados com os mantidos em clima temperado.

Como, em média, entre as temperaturas testadas, a de 25°C foi a que mais favoreceu a germinação dos conídios e o desenvolvimento dos tubos germinativos, número e comprimento, optou-se por utilizar esta temperatura nos ensaios seguintes.

6.2 Efeito do período de molhamento no processo germinativo (ensaio 2)

A análise de variância apontou diferença estatística para período de molhamento e isolado para número de tubos germinativos emitidos, mantidos a 25°C e no escuro (Tabela 1 e Figura 2). Houve efeito apenas para período de molhamento nas demais variáveis. O período de seis horas de molhamento foi suficiente para germinação de cerca de 50% dos conídios e o de 18,45 horas para a máxima germinação (99,28%), neste último os valores foram obtidos pela derivada da equação (Tabela 2 e Figura 2A). Autores afirmam que para a espécie *S. botryosum* em alfafa, o conídio requer apenas três horas de incubação em água livre entre 20 a 23°C para germinar (PIERRE & MILLAR, 1965). O processo germinativo bem sucedido tem consequência direta no estabelecimento da doença. Neste sentido, *Alternaria cucumerina* em meloeiro requer no mínimo oito horas de molhamento foliar para infecção (EVANS *et al.*, 1992). De acordo com Bradley *et al.* (2003) *Stemphylium* spp. requer no mínimo oito horas de umidade a baixa temperatura (10°C) para uma infecção bem sucedida. A infecção em alho e cebola por *S. vesicarium* requereu períodos mais longos que 24 horas para o desenvolvimento dos sintomas (BASALLOTE-UREBA *et al.*, 1999).

A emissão de tubos germinativos variou em função do isolado, do período de molhamento e da interação entre estes (Tabela 1 Figura 2B e C). O isolado SENA302 destacou-se pela maior emissão de tubos germinativos e, de modo geral, a emissão dos tubos germinativos estabilizou-se a partir de 16 horas, com ponto de máximo com 18,94 e 17,98 horas, para os isolados SENA302 (3,64 tubos por conídio) e SENA101 (2,52 tubos por conídio), respectivamente (Tabela 2). O alongamento das hifas dos tubos germinativos foi favorecido pelo aumento do período de molhamento até cerca de 16 horas. A partir deste período houve tendência a se estabilizar e o máximo comprimento foi registrado às 17,63 horas de molhamento (238,12 μm) (Tabela 2 e Figura 2D).

O favorecimento no processo germinativo devido aos períodos de molhamento mais prolongados também foi reportado em outras espécies. De acordo com Evans *et al.* (1992), o aumento na duração do molhamento acarretou no incremento da severidade da mancha-de-alternaria (*Alternaria cucumerina* (Ellis & Everh.) J. A.) em folhas de meloeiro (*Cucumis melo* L.) mantidas nas temperaturas de 12, 15, 18, 21, 24, 27 e 30°C. Leu (1988) constatou que a alta umidade aumenta a germinação, enquanto a presença de luz é detrimental ao processo. Em relação a espécie *Stemphylium* spp, a importância da umidade para os processos iniciais, bem como para o desenvolvimento da doença também foi documentado em outros trabalhos (BASALLOTE-UREBA *et al.*, 1999; JOHNSON & LUNDEN, 1986; MONTESINOS & VILARDELL, 1992; MONTESINOS *et al.*, 1995; SUHERI & PRICE, 2001).

Com base nestes resultados, assumiu-se o período de 16 horas de molhamento como o mais favorável à germinação dos conídios e emissão e alongamento dos tubos germinativos. No entanto, o período de seis horas de molhamento foi selecionado para o ensaio seguinte, por permitir germinação acima de 50% e não ser a condição ótima para esse evento, permitindo a discriminação dos resultados.

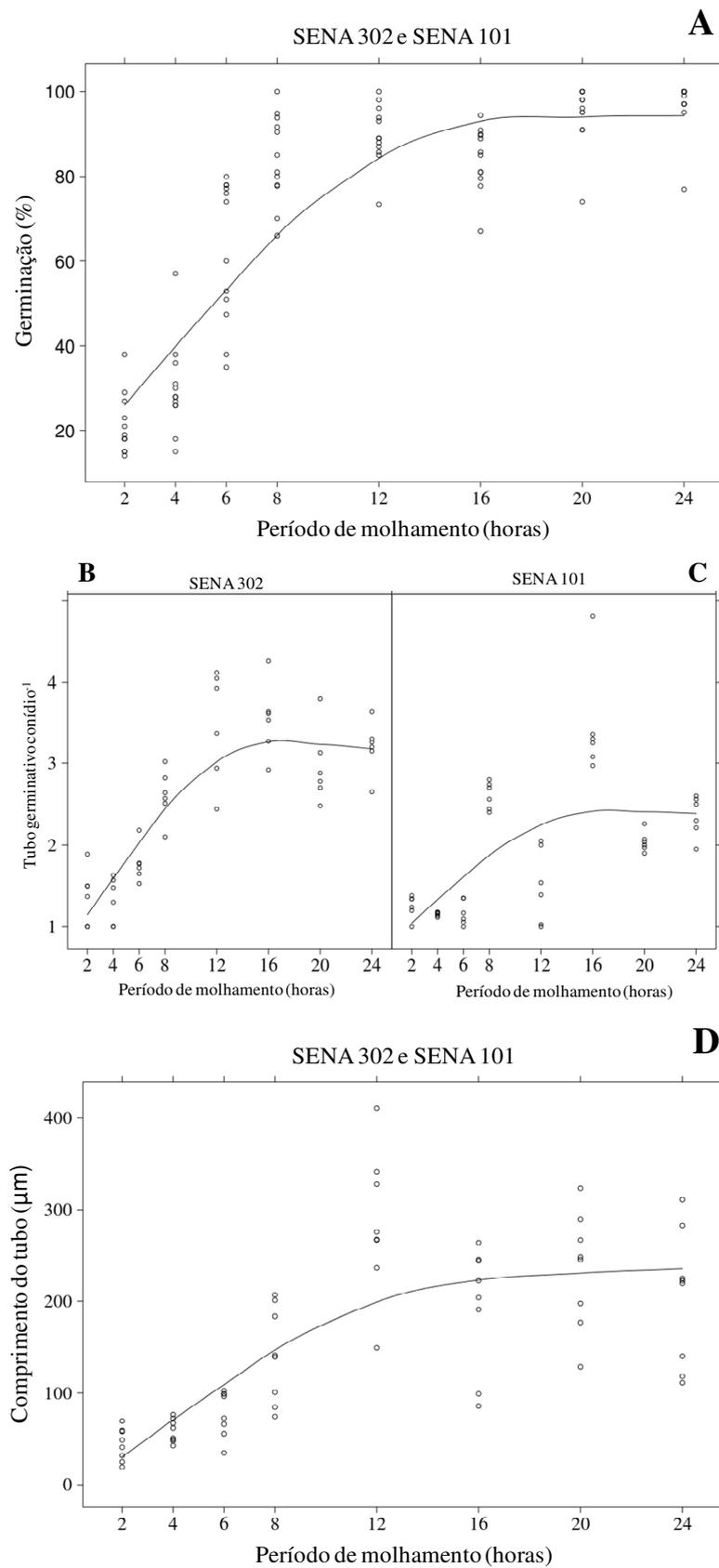


Figura 2. Efeito do período de molhamento sobre germinação (%) (A), número (B e C) e comprimento de tubo germinativo (D) de dois isolados de *Stemphylium solani*, mantidos a 25°C contínuo, no escuro.

6.3 Efeito do fotoperíodo processo germinativo (ensaio 3)

A porcentagem de germinação de conídios submetidos à temperatura de 25°C e seis horas de molhamento não apresentou diferença estatística significativa para fotoperíodo (Tabela 1). No entanto, foi observado efeito de fotoperíodo sobre o número e comprimento dos tubos germinativos. O comprimento dos tubos também foi afetado significativamente pelo fotoperíodo, pelo isolado e pela interação entre estes (Tabela 1). Observou-se, como tendência, aumento do comprimento e do número de tubos germinativos emitidos com o aumento do fotoperíodo (horas de escuro), com máxima emissão com 24 horas de escuro (Figura 3A). Este resultado foi similar ao encontrado por Singh *et al.* (2001) com conídios de *Alternaria tenuissima* submetidos aos regimes de luz contínua; 16 h de luz/8 h de escuro; 8 h de luz/16 h de escuro e escuro contínuo, a 25°C. Segundo os autores, os tratamentos com 8 h de luz/16 h de escuro e escuro contínuo foram os mais favoráveis a maior germinação, emissão de tubos germinativos emitidos e maior comprimento destas estruturas.

O efeito do fotoperíodo sobre o comprimento dos tubos germinativos, porém, variou com o isolado, tendo sido registrado crescimento linear do comprimento destas hifas com o aumento do número de horas de escuro para o isolado SENA302 e pequena resposta pelo isolado SENA101 (Tabelas 1 e 2; Figura 3B e C). Bentes & Matsuoka (2005) observaram que os tubos germinativos de *S. solani* circundavam esta estrutura até que a mesma se encontrasse aberta para realizar a penetração. Assim, o maior alongamento dos tubos germinativos em períodos mais longos de escuro pode estar relacionado com a estratégia de penetração no estômato aberto, na condição de luminosidade (claro). Segundo Sinha & Singh (1993), períodos menores que 7,7 horas de sol por dia são considerados favoráveis ao desenvolvimento de *S. botryosum* em lentilhas.

O aumento do número de tubos germinativos emitidos com a maior exposição ao número de horas de escuros pode estar relacionado com a facilidade de dessecação. As estruturas hialinas com ausência de pigmentos são mais facilmente desseccadas por altas temperaturas e alta luminosidade. Ao contrário do observado no conídio do *Stemphylium*, a presença de pigmentos não é observada nos tubos germinativos.

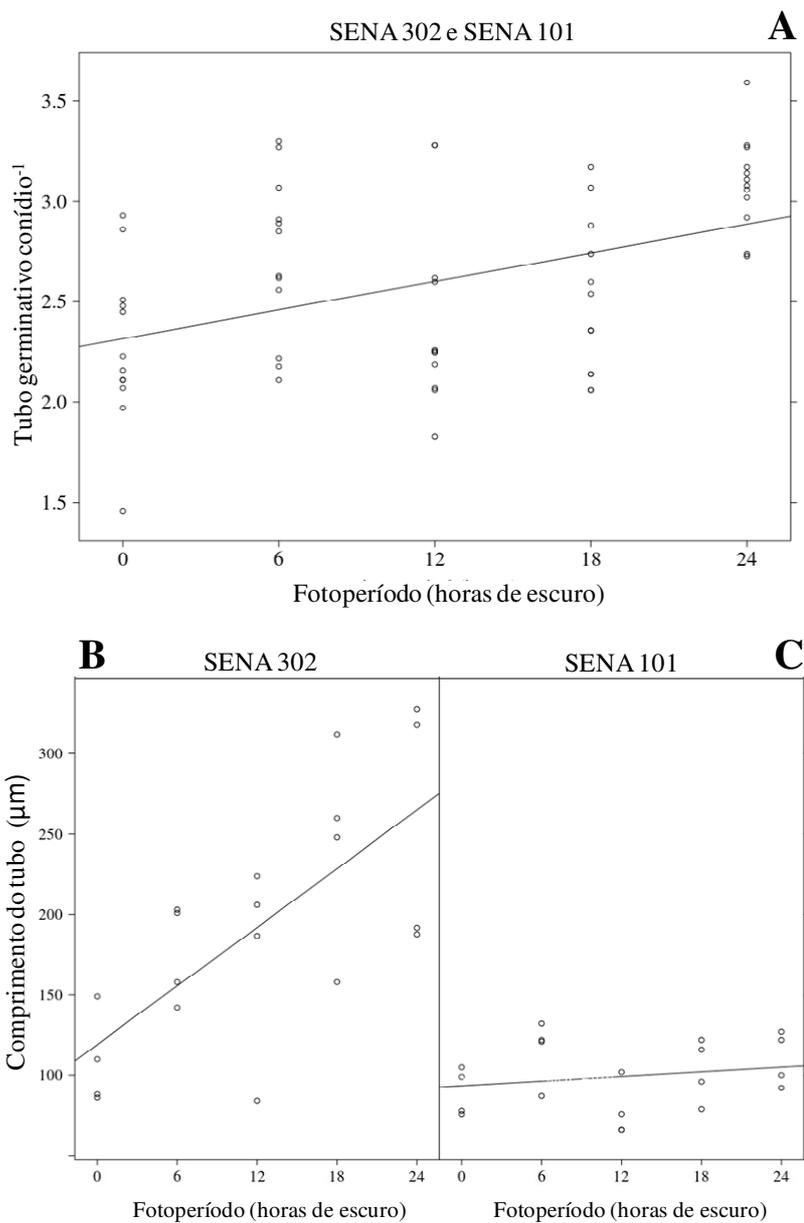


Figura 3. Efeito do fotoperíodo sobre o comprimento (A) e número de tubo germinativo (B e C) de dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA 101), mantidos a 25°C contínuo e seis horas de molhamento.

6.4 Efeito da temperatura e fotoperíodo no crescimento micelial e produção de conídios (ensaio 4)

Observaram-se diferenças significativas entre os dois isolados quanto a resposta às variações de temperatura e fotoperíodo para crescimento micelial e esporulação (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância para efeito da temperatura (T), isolado (IS) e fotoperíodo (F), sobre o crescimento micelial, expresso pela área abaixo da curva do crescimento da colônia (AACCM) e produção de conídios (ESP), in vitro de dois isolados *Stemphylium solani* (SENA302 e SENA101).

Fonte de Variação	GL	QM	
		AACCM	ESP
T ¹	1	1705008*	2,89*
F ²	1	82703*	0,38*
I(F ³)	1	--	3,92*
I(TE ³)	1	--	1,77*
IS	1	31568*	0,69*
T:F	1	135	0,12
T:IS	1	6663*	2,78*
I(F ³)	1	--	3,92*
I(T ³)	1	--	1,77*
F:IS	1	1175	0,00
IS:I(F ²)	2	6354*	0,10
F:I(T ²)	1	568200*	0,18
IS:I(TE ²)	1	72484*	0,00
TE:I(F ²)	1	28262*	0,29
IS:I(T ³)	2	90769*	0,49*
IS:I(F ³)	1	--	0,08
T:F:IS	1	16048*	0,67*
F:IS:I(T ²)	1	13622*	0,16
F:IS:I(T ³)	2	--	0,41*
T:IS:I(F ²)	1	2287	0,35*
T:IS:I(F ³)	2	--	0,28*
IS:I(F ²):I(T ²)	2	13592*	0,88*
Erro	281	1666	0,07

QM.: Quadrado médio. *5% de probabilidade de erro.

¹Variação de temperatura: 10; 15; 20; 25; 28 e 30°C; ²variação de fotoperíodo: 0, 6, 12, 18 e 24 horas de escuro

Para ambos os isolados, porém, observou-se inibição do crescimento micelial nas temperaturas de 35 e 40°C e, conseqüentemente, da produção de conídios. Na temperatura de 10° C, o desenvolvimento das colônias foi muito lento com acréscimos significativos com o aumento da temperatura até 30°C (Figura 4A e B).

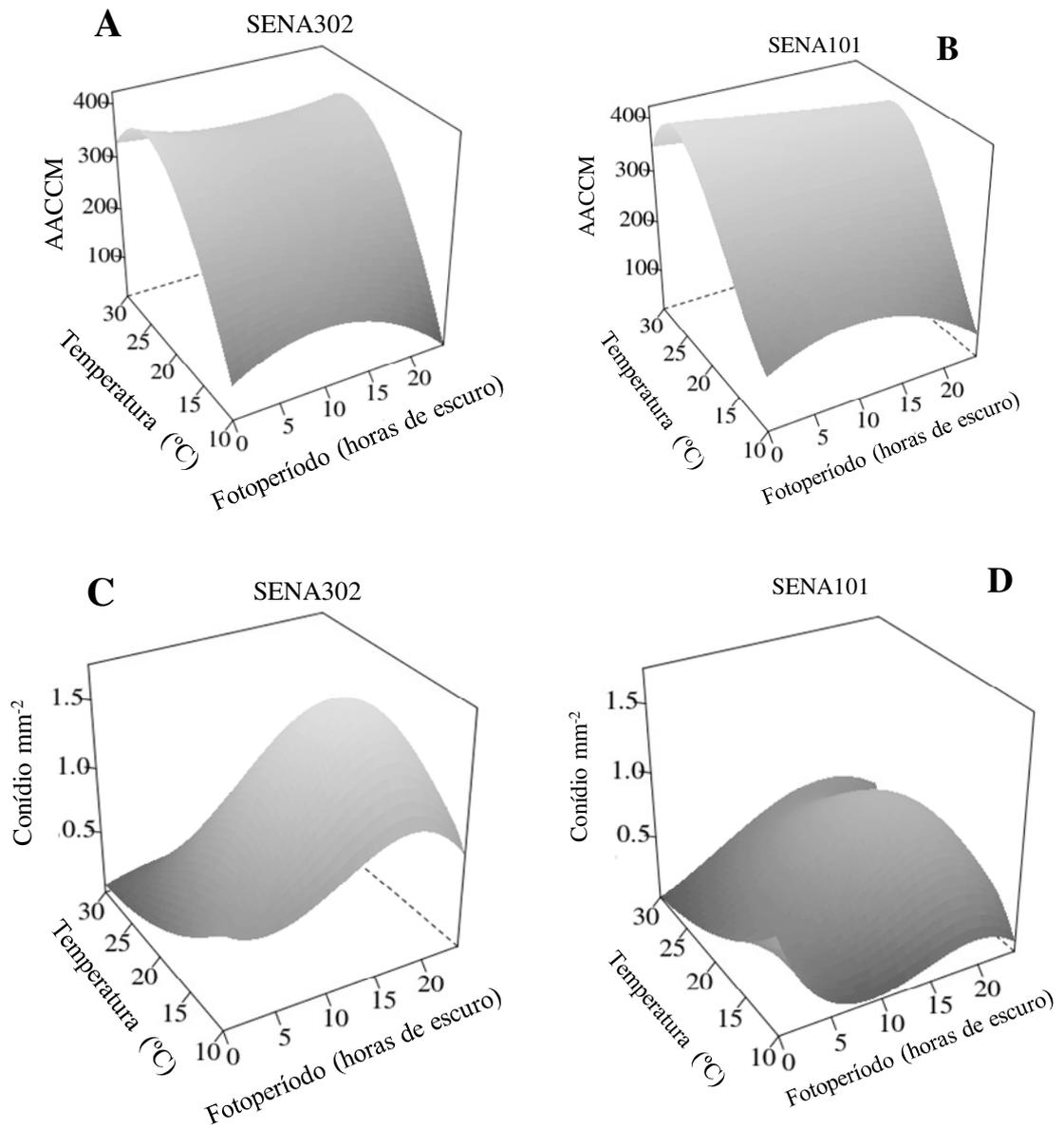


Figura 4. Efeito da temperatura e fotoperíodo no crescimento da colônia, expresso pela área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) (A e B) e esporulação (C e D), expressa pelo número de conídios mm⁻² da colônia de dois isolados de *Stemphylium solani* (SENA 302 e SENA 101).

A ausência de crescimento micelial em altas temperaturas também foi relatada em outros estudos. Segundo Zhang & Hu (2004), para *C. gloeosporioides* e *C. horii* altas temperaturas inibem o crescimento. O crescimento de *S. botryosum* também foi afetado por altas temperaturas (40°C) (HOSEN *et al.*, 2009). Temperaturas baixas também podem interromper o desenvolvimento do micélio; para *A. helianthi* o crescimento é paralisado a 5°C (LEITE & AMORIM, 2002). Em alguns casos temperaturas extremas não impedem o desenvolvimento do fungo, porém causam retardamento de suas atividades. Neste sentido, Bock *et al.* (1999) relataram rápida redução no crescimento de *P. sorghi* em temperaturas maiores que 30°C, e o decréscimo mais gradual nas temperaturas mais baixas (9°C).

A amplitude de crescimento micelial encontrada neste trabalho (10 a 30°C) foi similar à encontrada por outros autores. De acordo com Kim *et al.* (2004), as colônias de *S. solani* e *S. lycopersici* cresceram de 15 a 35°C, sendo a temperatura com maior crescimento 25°C. Para *S. botryosum* o crescimento foi constatado entre 15 a 35°C, e faixa favorável de 20-30°C (HOSEN *et al.*, 2009). A temperatura mínima estimada para a taxa de crescimento micelial de *A. helianthi* foi de 5,5°C e a máxima foi de 32,9°C, estimadas pela função beta generalizada (LEITE & AMORIM, 2002).

A presença de luz foi favorável ao crescimento micelial, os pontos de máximo crescimento micelial, expresso pela área abaixo da curva de crescimento das colônias (AACCM), ocorreram nas condições de 24,4°C com luminosidade contínua (AACCM = 394) para o isolado SENA302 e de 25,6°C com luminosidade contínua (AACCM = 393) para o isolado SENA101 (Figura 4C e D e Tabela 2). Na literatura é relatada diferentes respostas dos fungos frente à exposição a luz, dependendo de sua intensidade, qualidade, tempo de exposição e temperatura (ALAM *et al.*, 2001). Neste estudo, a ausência de luz implicou em uma redução no crescimento da colônia, sendo necessária para o desenvolvimento da mesma a alternância de claro/escuro. A diferenciação da hifa e sua capacidade de produção de conídios também se mostraram interligadas com necessidade de alternância das condições de luminosidade. Estudos na Índia baseados em dados climáticos concluíram que a epidemia da mancha-de-estenfilio em lentilha era favorecida até 7,7 horas de luz ao dia. No entanto, oito horas ou mais determinavam uma condição desfavorável para o desenvolvimento da doença (SINHA & SINGH, 1993). Por outro lado, ensaios com *S. solani* submetidos aos regimes de escuro total, luz ambiente de laboratório e fotoperíodo de 10 horas, demonstram que o crescimento micelial e a esporulação não foram afetados por estas diferentes situações (WELLS *et al.*, 1971).

De forma geral, houve acréscimos na produção de conídios com o aumento do número de horas de escuro, especialmente para o isolado SENA302 e com a redução da temperatura (Figura 4 e Tabela 3). A maior produção de conídios foi registrada para a combinação 15,84 horas de escuro e 15,6°C para o isolado SENA302 (1,74 conídios mm⁻²) e 15,84 horas de escuro e 18°C para o isolado SENA101 (1,62 conídios mm⁻²) (Tabela 2). No que diz respeito ao processo de reprodução, Paulus & Pound (1955) relataram que a esporulação de *S. solani* pode ocorrer na faixa de temperatura de 14 a 26°C, com 12 a 24 horas de molhamento. Estes mesmos autores atribuem a esporulação abundante de *S. solani* nesta faixa de temperatura à umidade relativa de 100% durante 24 horas. Contudo, temperaturas baixas como 10°C podem inibir a esporulação, mesmo quando utilizado maior período de molhamento (48 horas).

Em termos gerais, as temperaturas fora da faixa ótima podem inibir a esporulação, assim como as demais fases de desenvolvimento do fungo (AGRIOS, 2005). Embora autores tenham atribuído a temperatura de 25°C, como a melhor condição para propiciar a esporulação, a exemplo de *S. botryosum* f. sp. *lycopersici*, Bashi & Rotem (1975) constataram que na ausência de luminosidade a maior produção de conídios de *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* ocorre a 25°C; e em condições de luminosidade contínua ou 12 horas de escuro seguido de 12 horas de claro, a maior produção de conídios ocorreu na temperatura de 15°C.

Resultado semelhante ao observado neste ensaio, com o uso alternado de luminosidade (12 horas de fotoperíodo) a maior produção de conídios foi observado a 15°C.

Referente a luminosidade, Boss & Day (2001) descrevem o *Stemphylium* como um esporulador diurno, o qual requer a alternância de ciclo luz e escuro para o desenvolvimento do esporo. A produção de conidióforos requer luz ultravioleta, enquanto, a segunda fase (quando o conídio é produzido) necessita de período de escuro. Na condição de escuro contínuo são produzidos poucos conídios e em luminosidade contínua os conidióforos produzidos são estéreis. Corroborando com estas informações, Minussi *et al.* (1977) relatam que a luminosidade contínua inibe a esporulação de *S. solani*; os conidióforos são formados, mas sem desenvolvimento dos conídios. O efeito inibitório da luminosidade contínua também foi observado em *S. botryosum* f. sp. *lycopersici* (LEACH, 1967), porém este efeito diminuía com a redução da temperatura (BASHI & ROTEM, 1975). Alguns estudos apontam que a condição de escuro total pode promover a esporulação de *S. botryosum* f.sp. *lycopersici* em tomate (BASHI & ROTEM, 1975). Outros trabalhos relatam o efeito positivo da luz em promover a produção de conídios, neste caso *S. floridanum* em folhas destacadas de tomate (HANNON & WEBER, 1955).

Em relação ao comprimento de onda, alguns fungos patogênicos (a exemplo, *Alternaria*, *Botrytis*, e *Stemphylium*) esporulam somente quando recebem luz na faixa do comprimento de onda do ultra-violeta (UV) (abaixo 360 nm) (AGRIOS, 2005). Neste sentido, *S. botryosum* e *S. trifolii* obtiveram melhor esporulação quando cultivados em meio V8 e submetidos a 20°C com 12 horas de luz perto do ultravioleta (KIM *et al.*, 2004). Para *Alternaria porri* f. sp. *solani*, o aumento da intensidade luminosa (9,5 para 195 µE) e na exposição a luz (8 a 12 horas) fomentaram a esporulação (BASHI & ROTEM, 1975)

Para cada fase de desenvolvimento do patógeno há determinadas condições favoráveis, o que afeta diretamente o estabelecimento da doença e desenvolvimento dos sintomas. Neste sentido, Menzies *et al.* (1991) observaram que dois dias de molhamento foliar são suficiente para *Stemphylium* sp. em aspargos (*Asparagus officinalis* L.) atingir a severidade máxima, em plantas incubadas a 14°C durante o período de infecção. Plantas mantidas nesta temperatura tiveram maiores níveis de infecção do que aquelas mantidas a 20 ou 26°C. A importância de cada condição climática pode variar segundo o patossistema. No estudo com *Monilinia fructicola* infectando frutos de pessegueiro (*Prunus persica* L.), as análises de regressão demonstraram que a concentração de inóculo e duração do período de molhamento são fatores mais significantes para a infecção secundária, quando comparados com a temperatura (LUO *et al.*, 2001). Assim, conhecer o efeito de cada condição ambiental em determinada fase de desenvolvimento do patógeno é fundamental para entender o comportamento deste no campo. Além da possibilidade de relacionar o efeito dos componentes climáticos sobre a epidemia.

Os resultados aqui obtidos auxiliarão futuros protocolos de produção de inóculo. As temperaturas de 25 e 15°C são recomendadas por favorecer o crescimento micelial e fomentar a esporulação, respectivamente. Ainda, para a esporulação abundante é necessário a alternância de luminosidade (claro/escuro). Além de priorizar isolados mais esporulantes, como o SENA302, para a produção de inóculo.

7. CONCLUSÕES

Efeito da temperatura e período de molhamento no processo germinativo

1. O processo germinativo é favorecido pela maior duração do período de molhamento (12 horas).
2. A maior porcentagem de conídios germinados foi estimada a 23°C (96,91%) para o isolado SENA302 e 24,5°C (95,95%) para o isolado SENA101.
3. A maior emissão de tubos germinativos foi estimada na temperatura de 23,5°C para SENA302 (3,9) e 26,5°C para SENA101 (2,4).
4. O ponto de máximo estimado para o comprimento do tubo germinativo foi 188,739 μm a 23,5°C.
5. Recomenda-se o uso da temperatura de 25°C para demais ensaios futuros com germinação de conídios de *S. solani*.

Efeito do período de molhamento no processo germinativo

1. Entre os períodos testados, 16 horas de molhamento é o mais favorável à germinação dos conídios e emissão e alongamento dos tubos germinativos.
2. Na temperatura de 25°C (no escuro), seis horas de molhamento é suficiente para que 50% dos conídios germinem. Este período foi selecionado para os ensaios seguintes com germinação.

Efeito do fotoperíodo no processo germinativo

1. O número e comprimento dos tubos germinativos aumentaram com a maior exposição ao número de horas de escuro.
2. O efeito do fotoperíodo é mais acentuado sobre o comprimento dos tubos germinativos no isolado SENA302.

Efeito da temperatura e do fotoperíodo no crescimento micelial e na produção de conídios

1. O maior diâmetro da colônia do SENA302 foi estimado na temperatura de 24,4°C e 25,6°C SENA101.
2. A máxima esporulação ocorreu na condição de 15,84 horas de escuro a 15,6°C (1,74 conídios mm^{-2}) SENA302 e 18°C com 15,84 horas de escuro (1,62 conídios mm^{-2}) para SENA101.
3. Para futuros protocolos de produção de inóculo são recomendadas as temperaturas de 25°C para favorecer o crescimento micelial e de 15°C para fomentar a esporulação. Para a produção abundante de conídios é necessário a alternância de luminosidade (claro/escuro) e o uso de isolados mais esporulantes, como o SENA302.

8. REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. 948p.
- ALAM , M. S.; BEGUM , M. F.; SARKAR, M. A.; ISLAM, M. R.; ALAM, M. S. Effect of Temperature, Light and Media on Growth, Sporulation, Formation of Pigments and Pycnidia of *Botryodiplodia theobromae* Pat. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 4, p. 1224-1227, 2001.
- BASALLOTE-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.; ROTEM, J. Effect of light on sporulation of *Alternaria porri* f. sp. *solani* and of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in vivo. **Phytoparasitica**, v. 3, n. 1, p. 63-67, 1975.
- BENTES, J. L. S.; MATSUOKA, K. Histologia da interação *Stemphylium solani* e tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 224-231. 2005.
- BOCK, C. H.; JEGER, M. J.; MUGHOGHO, L. K.; CARDWELL, K. F.; MTISI, E. Effect of dew point temperature and conidium age on germination, germ tube growth and infection of maize and sorghum by *Peronosclerospora sorghi*. **Mycol. Res.**, v. 103, n. 7, p. 859-864, 1999.
- BONDE, M. R.; BERNER, D. K.; NESTER, S. E.; FREDERICK, R. D. Effects of temperature on urediniospore germination, germ tube growth, and initiation of infection in soybean by *Phakopsora* isolates. **Phytopathol.**, v. 97, p. 997-1003, 2007.
- BOSS, M. J.; DAY, D. W. **Air sampling and industrial hygiene engineering**. Florida: CRC press, 2001, 127p.
- BOUAMAMA, N.; VIDAL, C.; FARGUES, J. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the persistence of quiescent conidia of *Isaria fumosorosea*. **J. Invertebrate Pathol.**, v. 105, p. 139-144, 2010.
- BRADLEY, D. J.; GILBERT, G. S.; AND PARKER, I. M. Susceptibility of clover species to fungal infection: The interaction of leaf surface traits and environment. **Am. J. Bot.**, v. 90, p. 857-864, 2003.
- COWLING, W. A., GILCHRIST, D. G. AND GRAHAM, J.H. Biotypes of *Stemphylium botryosum* on alfalfa in North America. **Phytopathol.**, v. 71, p. 679-684, 1981.
- DILLARD, H. R. Influence of temperature, pH, osmotic potencial and fungicide sensitivity on germination of conidia and growth from sclerotia of *Colletotrichum coccodes* in vitro. **Phytopathol.**, v. 78, p. 1357-1361, 1988.
- DOMINGUES, D. P. **Etiologia e controle da mancha-de-estenfilio do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no estado do Rio de Janeiro**. 81f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.

EVANS, K. J., NYQUIST, W. E.; LATIN, R. X. A model based on temperature and leaf wetness duration for establishment of *Alternaria* leaf of muskmelon. **Phytopathol.**, v. 82, p. 890-895, 1992.

HANNON, C.; WEBER, G. F. A leaf spot of tomato caused by *Stemphylium floridanum* sp. **Phytopathology**, v. 45, p. 11-16, 1955.

HENDRIX, J. W.; FRAZIER, W. A. Studies on the inheritance of *Stemphylium* resistance in tomatoes. **Technical Bulletin**, Honolulu: University of Hawaii, n. 8, 1949, 24p.

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

JACOB, D.; RAV DAVID, D.; SZTJENBERG, A.; ELAD, Y. Conditions for development of powdery mildew of tomato caused by *Oidium neolyopersici*. **Phytopathol.**, v. 98, p. 270-281, 2008.

JOHNSON, D. A.; LUNDEN, J. D. Effects of wounding and wetting duration on infection of asparagus by *Stemphylium vesicarium*. **Plant Dis.**, v. 70, p. 419-420, 1986.

KIM, B. S.; YU, S. H.; CHO, H. J.; HWANG, H. S. Gray Leaf Spot in Peppers Caused by *Stemphylium solani* and *S. lycopersici*. **Journal of Plant Pathology**, v. 20, n. 2, p. 85-91, 2004.

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: Doenças das plantas cultivadas**, v. 2, São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 1997, 705 p.

LATGÉ, J. P., PAPIEROK, B.; SAMPEDRO, L. Agressivité de *Conidiobolus obscurus* vis-à-vis du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* (Hem.: Aphididae) 1. Comportement des conidies sur la cuticule avant la pénétration du tube germinatif dans l'insecte. **Entomophaga**, v. 27, n. 3, p. 323-330, 1982.

LEACH, C. M. Interaction of near ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Helminthosporium* and *Stemphylium*. **Can. J. Bot.** v. 45, p. 1999-2016, 1967.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de alternaria em girassol. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 193-200, 2002. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-41582002000200012&lng=en&tlng=pt. 10.1590/S0100-41582002000200012.

LEU, L. S. Rust. In: **Compendium of grape diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society, p.28-30, 1988.

LUO, Y.; MA, Z.; MICHAILIDES, T. J. Analysis of factors affecting latent infection and sporulation of *Monilinia fructicola* on prune fruit. **Plant Dis.**, v. 85, p. 999-1003, 2001.

MEHTA, Y. R.; Genetic diversity among isolates of *Stemphylium solani* from cotton. **Fitopatologia brasileira**, v. 26, n. 4, p. 703-709, 2001.

MENZIES, S. A.; BANSAL, R. K.; BROADHURST, P. G. Effect of environmental factors on severity of Stemphylium leaf spot on asparagus, New Zealand J. Crop and **Hortic. Sci.**, v. 19, v. 2, p. 135-141, 1991.

MIRANDA, B. E. C. **Identificação de acessos de *Solanum* spp. (seção Lycopersicon) com resistência à murcha-de-verticílio (*Verticillium dahliae*) e à mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* e *S. lyconpersicici*).** 87f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Brasília: Universidade de Brasília. 2009.

MINUSSI, E.; MACHADO, C. C.; MENTEN, J. O. M.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Effects of different light conditions on the sporulation of *Stemphylium solani* (Weber) in a culture medium. **Fitopatologia Brasileira**, v. 2, p. 167-171, 1977.

MONTESINOS, E.; MORAGREGA, C.; LLORENTE, I.; VILARDELL, P. Susceptibility of selected European pear cultivars to infection by *Stemphylium vesicarium* and influence of leaf and fruit age. **Plant Dis.**, v. 79, p. 471-473, 1995.

MONTESINOS, E.; VILARDELL, P. Evaluation of FAST as a forecasting system for scheduling fungicide sprays for control of *Stemphylium vesicarium* on pear. **Plant Dis.**, v. 76, p. 1221-1226, 1992.

MWAKUTUYA, E.; BANNIZA, S. Influence of temperature and wetness periods on the development of Stemphylium blight on lentil. **Plant Dis.**, v. 94, p. 1219-1224, 2010.

NAMEKATA, T.; TOKESHI, H. Variabilidade de *Stemphylium solani*, Weber, agente causal de mancha foliar do tomateiro, no estado de São Paulo. **Anais da E.S.A Luiz de Queiroz**, v. 13, p. 273-288, 1967

NARUZAWA, E. S.; CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; TOMQUELSKI, G. V.; BOLIANI, A. C. Estudos epidemiológicos e controle químico de *Phakopsora euvtis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 41-45, 2006.

PAULUS, A. D.; 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, 1955.

PIERRE, R. E.; MILLAR, R. L. Histology of pathogen-suscept relationship of *Stemphylium botryosum* and alfafa. **Phytopathology**, v. 55, p. 909-914, 1965

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 Pathol. Journal**, v. 9, n. 4, p. 179-187, 2010.

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

ROTEM, J.; BASHI, E. A review of the present status of the *Stemphylium solani* in tomato foliage. **Phytoparasitica**, n. 5, v. 1, p. 45-48, 1977.

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

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, n. 67, p. 1051-1056, 1977.

SINGH, S.K.; TULI, L.; SINGH, V. P.; PRITHIVIRAJ, B. Effect of temperature, light/darkness and relative humidity on germination and sporulation of *Alternaria tenuissima*. **Indian Phytopath.**, v. 54, n. 1, p. 128-130, 2001.

SINHA, J. N.; SINGH, A. P. Effect of environment on the development and spread of stemphylium blight of lentil. **Indian Phytopathol.**, v. 46, p. 252 -253, 1993.

SOARES, 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, n. 4, p. 265-272, 2008.

SUHERI, H.; PRICE, T.V. The epidemiology of purple leaf blotch on leeks in Victoria, Australia. **Eur. J. Plant Pathol.**, v. 107, p. 503-510, 2001.

WELLS, H. D.; FORBES, I.; MARKHAM, C. R. A. A black, readily sporulating mutant of *Stemphylium solani* susceptible biotypes of blue lupine. **Phytopathology**, v. 61, p. 575-577, 1971.

ZHANG, J. Z. AND HU, D. W. Effects of environment factors on conidia germination, appressorium formation and pathogenicity of the persimmon anthracnose pathogens *Collectotrichum gloeosporioides*. **Acta Phytopathol Sinica**, v. 22, n. 4, p. 645-652, 2004.

CAPITULO II

Ensaio monocíclicos *in vitro* e em casa-de-vegetação: efeito da temperatura, período de molhamento, concentração de conídios e estágio fenológico das plantas no progresso da mancha-de-estenfílio do tomateiro

RESUMO

Os estudos sobre o efeito do ambiente no desenvolvimento da mancha-de-estenfílio em tomateiro são escassos, e quando existentes são antigos ou testados em condições de clima temperado. Esta situação é agravada pela falta de metodologias adequadas tanto para a instalação dos ensaios, como para a avaliação da doença. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes condições de temperatura, período de molhamento e concentração de conídios na infecção do *Stemphylium solani* em tomateiro, relacionado com diferentes estádios fenológicos, a infecção de frutos de tomateiro e desenvolver um protocolo eficiente para avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro, em condições de laboratório. A doença foi estudada em plantas das cultivares ‘Perinha Água Branca’ (suscetível) e ‘Mascot’ (resistente), mantidas nas temperaturas constantes de 15; 20; 25; 28 e 30°C. Na sequência, a temperatura de 25°C contínua foi confrontada com as temperaturas alternadas de 25 (diurno) e 15°C (noturno). Fixado o uso alternado das temperaturas (25 e 15°C), testaram-se os períodos de 2, 6, 16, 24 e 48 horas de molhamento foliar. Depois de estabelecido o período de 24 horas de molhamento, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de conídios (1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1}) na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro. A mancha-de-estenfílio foi avaliada nos três folíolos terminais de cada folha, duas por planta, 10 plantas em cada bloco, em um total de três blocos (delineamento blocos ao acaso). Foram determinados a severidade, o progresso da lesão (obtido pela multiplicação do número de lesões por seu diâmetro) e os períodos de incubação e latente. Calcularam-se os valores das Áreas Abaixo das Curvas de Progresso da Severidade (AACPS) e da lesão (AACPL). O efeito da concentração de conídios (1×10^3 ; 1×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1}) também foi avaliado em frutos de tomateiro, com e sem ferimento. Calculou-se a AACP da incidência. A severidade (AACPS) da mancha-de-estenfílio foi avaliada em plantas de ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’ com três, 14 e 19 folhas (plantio escalonado), em casa-de-vegetação climatizada à 28°C. O efeito do estágio fenológico e a idade/posição foram analisados. Segundo os ensaios laboratoriais, confirma-se o uso dos genótipos ‘Perinha Água Branca’ e de ‘Mascot’, como padrão suscetível e resistente, respectivamente. As plantas devem ser inoculadas com suspensão na concentração 1×10^4 conídios mL^{-1} , mantidas nas temperaturas de 25°C diurno e 15°C noturno, com 24 horas de molhamento. O *S. solani* é capaz de infectar frutos de tomateiro e sua infecção é favorecida com a presença de ferimentos, e na ausência destes, depende de suspensões conidiais mais concentradas. No ensaio em casa-de-vegetação, a severidade da mancha-de-estenfílio foi maior em folhas mais velhas (baixeiras) sendo que este efeito acentua-se com o desenvolvimento da planta. Este resultado implica na produção, afetando principalmente os primeiros cachos de frutos, responsáveis pela maior produção dos tomates de mesa. Recomenda-se avaliar a doença na porção mediana da planta adulta, evitando severidades muito altas (folhas baixas - velhas) e baixas (folhas apicais - novas) o que dificultaria a discriminação dos tratamentos.

Palavras-chaves: *Stemphylium solani*; epidemiologia, etiologia; infecção.

9. INTRODUÇÃO

A ocorrência da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) no Brasil é atribuída a duas espécies, *S. solani* Weber, *S. lycopersici* (Enjoji) W. Yamamoto (syn. *S. floridanum* Hannon & G. F. Weber) (SANTOS, 1995). As lesões ocorrem principalmente nas folhas e em condições favoráveis e alta quantidade de inóculo, pode ser observada lesões da doença nos pecíolos e nos pedúnculos florais (ROTEM & BASHI, 1977; JONES, 1991). De acordo com estes autores, não ocorre lesões em frutos e esta informação ainda é utilizada (REIS *et al.*, 2006; DOMINGUES, 2012).

O primeiro relato da doença no país ocorreu em 1945, no Estado do Rio de Janeiro (NAMETAKA & TOKESHI, 1967). Desde então, a sua ocorrência nas lavouras apresenta grande variação; em determinados momentos a frequência é esporádica e em outros tem sua importância aumentada, como o ocorrido em meados de 1967 (NAMETAKA & TOKESHI, 1967; ALAVARENGA, 2004) e recentemente (DOMINGUES, 2012).

O incremento na epidemia da mancha-de-estenfílio geralmente é atribuído ao plantio de genótipos suscetíveis, a exemplo a cultivar ‘Santa Cruz’, amplamente plantada entre as décadas de 40 e 60 devido à preferência do mercado, e o tomate longa vida ‘Débora Plus’, muito comercializado atualmente (ALVARENGA, 2004). Outros autores também aliam erros de diagnose, os quais resultam em estratégias inadequadas para controle, como potencializadores do aumento da epidemia (BEHARE *et al.*, 1991). No entanto, outros fatores podem contribuir para diferentes intensidades da doença, como fatores ambientais (temperatura, período de molhamento e umidade relativa), a variação da virulência do patógeno, a quantidade de inóculo presente na área (SUTTON, 1988; AGRIOS, 2005) e baixa eficiência do controle químico (DOMINGUES, 2012).

A quantidade de inóculo presente na área é um fator com particular importância nos ensaios laboratoriais, onde em condições *in vitro* os sintomas da doença são reproduzidos. Muitos são os trabalhos desenvolvidos visando determinar a melhor concentração para a inoculação, como o de Fernandes *et al.* (1991) com *Cercospora coffeicola* em cafeeiro (*Coffea arabica*); o de Mello *et al.* (2003) com *Alternaria cassiae* para biocontrole de fedegoso (*Senna obtusifolia*); o de Carvalho & Chaves (2007) com *Alternaria dauci* em cenoura (*Daucus carota*) e o de Suheri & Price (2001) com *Alternaria porri* e *Stemphylium vesicarium* em cebola (*Allium* spp.).

No caso de espécies de *Stemphylium*, poucos são os trabalhos relacionados com quantidade de inóculo e fatores ambientais na infecção do hospedeiro, e quando existentes em sua maioria são antigos (BASHI *et al.*; 1973; BASHI & ROTEM, 1975a; 1975b; ROTEM *et al.*, 1978). As informações sobre a influência do estágio fenológico do tomateiro, bem como a idade de suas folhas, na infecção deste patógeno são escassas (ROTEM, 1968; ROTEM & COHEN, 1966). As dificuldades sobre este patossistema também estão aliadas a falta de metodologias adequadas tanto para a instalação dos ensaios, como para a avaliação da mancha-de-estenfílio (Domingues *et al.*, dados não publicados).

Assim, estudos que possam agregar mais informações ao patossistema tomateiro x *Stemphylium* são de grande valia, tanto para auxiliar outras pesquisas como para planejar o manejo fitossanitário. De acordo com as informações apresentadas, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes condições de temperatura, período de molhamento e concentração de conídios na infecção do *S. solani* em tomateiro, relacionado com diferentes estádios fenológicos. E também verificar se o patógeno é capaz de infectar frutos de tomateiro e obter um protocolo eficiente para instalação e avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro, em condições de laboratório.

10. MATERIAL E MÉTODOS

O efeito de diferentes condições (concentração de conídios, período de molhamento e temperatura) foi avaliado na infecção do *S. solani* em plantas de tomateiro. Para tanto, foram desenvolvidos ensaios preliminares, em condição *in vitro* e em casa-de-vegetação, para adequação da metodologia, uma vez que não havia metodologia previamente testada para o estudo desta doença no local de trabalho. Assim, metodologias empregadas em outros trabalhos foram testadas, bem como adaptadas quando necessário e também, muitas vezes criadas. O efeito da concentração de conídios na infecção foi testado em condições de laboratório utilizando-se plântulas cultivadas em tubos de ensaio, em caixas plásticas tipo gerbox, em folhas destacadas e em frutos. O efeito da concentração de conídios na infecção também foi estudado em condições de casa-de-vegetação, onde compararam-se diferentes períodos de molhamento foliar em plantas cultivadas em bandejas e em copos. Após estes ensaios, avaliou-se em condições de câmara de crescimento o efeito da temperatura, do período de molhamento e da concentração de conídios na infecção de mudas e o efeito da concentração de conídios em frutos destacados. Adicionalmente, a infecção em função do estágio fenológico do hospedeiro e da idade da folha foi verificada em plantas mantidas em casa-de-vegetação.

10.1 Produção de inóculo

O isolado selecionado para produção de inóculo foi SENA 302 de *S. solani*, pertencente ao acervo da UFRRJ, coletado em lavouras comerciais de tomateiro em Paty do Alferes-RJ. O critério de escolha considerou a maior produção de conídios, resultado obtido no capítulo I. Conídios do fungo foram transferidos para diferentes pontos da placa de Petri contendo meio V8 (200 mL suco V8, 17 g Agar, 800 mL de água destilada e 3 g de CaCO₃, DIENER, 1952) e mantidos em câmara de crescimento a 25°C e 12 h de fotoperíodo por 10 dias. Após este período as placas foram transferidas para o ambiente com temperatura de 15°C, até apresentar esporulação abundante (cinco a sete dias). O cultivo do fungo e a produção de conídios consideraram os resultados obtidos no capítulo I. Para preparo das suspensões de inóculo, adicionou-se água destilada esterilizada (ADE) às placas para remoção dos conídios e a concentração da suspensão foi ajustada com auxílio de câmara de Neubauer.

10.2 Ensaios preliminares

10.2.1 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção de plântulas de tomateiro, *in vitro*

A mancha-de-estenfílio pode ser avaliada em cotilédones de tomateiro, no intuito de uma triagem rápida e seleção em massa (SANTOS, 1999). Desta forma, a metodologia de Santos (1999) para casa-de-vegetação foi adaptada para condições de laboratório. As sementes dos híbridos de tomate Serato e Dominador, classificados como altamente suscetível e resistente à mancha-de-estenfílio (DOMINGUES, 2012), respectivamente, foram semeadas em caixas plásticas do tipo gerbox esterilizadas sob luz ultravioleta durante 20 minutos, contendo duas folhas de papel filtro esterilizado e umedecido com ADE (20 mL). Em cada gerbox, foram alocadas nove sementes, sendo utilizados cinco gerbox por genótipo. As amostras foram acondicionadas em câmara de crescimento a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas e 80% de umidade relativa (UR). Após a germinação, quatro plântulas com características semelhantes foram selecionadas e transferidas para tubos de ensaio, contendo 5 mL de ADE e uma tira de papel filtro estéril. As plântulas foram inoculadas, via pulverização,

com suspensões nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} , mais a testemunha não inoculada. Simultaneamente, as plântulas restantes (quatro por caixa gerbox) foram inoculadas seguindo os mesmos tratamentos que o ensaio anterior, cada caixa gerbox recebeu uma concentração. Em ambos os ensaios, a inoculação foi realizada aos sete dias após a semeadura.

A avaliação dos sintomas nas folhas cotiledonares iniciou-se um dia após a inoculação (DAI) e seguiu-se em dias alternados, até 11 DAI (totalizando seis avaliações). Nas avaliações adotou-se as seguintes notas: 1 para ausência de lesões; 2 para presença de lesões em um cotilédone e 3 para presença de lesões em dois cotilédones (escala própria). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em fatorial 2×5 , duas cultivares e cinco concentrações de inóculo, com quatro repetições por tratamento, sendo a parcela experimental composta por uma plântula. Os dados foram integralizados no tempo para calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) segundo Shaner & Finney (1977). Depois foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando o efeito de cultivar, da concentração de conídio e da data de avaliação. Para a separação de médias entre cultivares utilizou-se o teste *t*, para as datas de avaliação o teste Tukey e para as concentrações a análise de regressão, seguindo o modelo linear e o quadrático (SISVAR). Na análise foram desprezados os valores da testemunha não inoculada, devido à ausência de infecção. Uma linha foi adicionada na presença de regressão significativa ($p < 0,05$) e as informações como, o quadrado médio, coeficiente de determinação (R^2) e *p*-valor foram apresentadas em uma tabela.

10.2.2 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção de folhas destacadas de tomateiro, *in vitro*

Folhas destacadas de tomateiro, cultivares 'Débora Plus' (suscetível) e 'Santa Clara' (resistente), com aproximadamente cinco folíolos, foram desinfetadas superficialmente em álcool etílico 70% e hipoclorito 0,5%, ambos por 30 segundos e enxaguadas duas vezes em ADE. Na sequência, as folhas foram depositadas em caixas tipo Gerbox contendo duas folhas de papel filtro umedecidos com 20 mL de ADE. As folhas foram inoculadas com as seguintes concentrações de inóculo: 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} , mais a testemunha com água. As folhas permaneceram em câmara de crescimento a 25°C , com fotoperíodo de 12 horas, 80% de UR, durante todo o experimento. Após três dias da inoculação, as folhas foram submetidas a três lavagens em ADE, para a retirada do excesso de inóculo e troca do papel filtro.

As avaliações iniciaram-se aos nove dias após a inoculação (DAI) e em dias alternados, considerando o número e o diâmetro das lesões presentes em cada folíolo. Foram realizadas quatro avaliações, durante 16 dias. Na última avaliação, realizou-se a quantificação dos conídios produzidos, para isso as folhas foram colocadas em tubos contendo 2 mL de solução de ADE + Tween 0,1 % e agitadas para remoção dos conídios. A contagem foi feita em câmara de Neubauer. Para cada amostra (tubo de ensaio) foram realizadas duas leituras.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado e quatro repetições por tratamento. Para análise de dados o número das lesões foi multiplicado pelo diâmetro médio para obtenção de uma variável referente ao progresso das lesões (PL). Com a mesma foi calculada a Área Abaixo do Progresso da Lesão (AACPL) de acordo com Shaner & Finney (1977). Os dados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância (ANOVA), para a distinção dos genótipos utilizou-se o teste *t* e para a concentração de conídios a análise de regressão testando o modelo linear e o quadrático ($p < 0,05$) (SISVAR). O modelo selecionado considerou o *p*-valor e o coeficiente de determinação (R^2). Quando adequado foi

plotada a linha de regressão ($p < 0.05$), e os dados do modelo e o R^2 apresentados em tabela. Os dados foram transformados por $\sqrt{x + 1}$.

10.2.3 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção de frutos de tomateiro, *in vitro*

A capacidade de infecção do *S. solani* em frutos de tomateiro foi testada em dois ensaios preliminares, uma vez que na literatura consta que o fungo não infecta estes órgãos (ROTEM & BASHI, 1977; JONES, 1991). No primeiro ensaio, verificou-se se a presença de ferimentos facilita a infecção do patógeno e se a mesma é influenciada pela concentração de conídios. No segundo ensaio, investigou-se se o fungo infecta os frutos de tomateiro naturalmente no campo.

Para o ensaio 1, foram amostrados 22 frutos da cultivar ‘Perinha Água Branca’ (suscetível) e 30 frutos do ‘Mascot’ (resistente), de campos experimentais do setor de Horticultura da UFRRJ. Os frutos foram desinfetados seguindo mesma metodologia adotada no ensaio com as folhas destacadas, e na sequência, acomodados em caixas gerbox, contendo duas folhas de papel filtro esterilizadas e umedecidas com 20 mL de ADE.

Os tratamentos consistiram na presença ou ausência de ferimentos (realizados com uma agulha esterilizada – três pontos por fruto), níveis de maturação (fruto verde, maturação fisiológica e fruto maduro) e concentrações de suspensão (0 , 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1}). Segue a quantidade de frutos coletados, entre parênteses, em cada condição: ‘Perinha Água Branca’ - frutos verdes, não-feridos e inoculados com 1×10^4 conídios mL^{-1} (2); frutos verdes, feridos e inoculados com 1×10^4 conídios mL^{-1} (2); frutos maduros, não-feridos, inoculados nas quatro concentrações testadas (2); frutos maduros, feridos, inoculados nas quatro concentrações testadas (2); fruto com maturação fisiológica, não-ferido e inoculado com 1×10^4 conídios mL^{-1} (1) e fruto com maturação fisiológica, ferido e inoculado com 1×10^4 conídios mL^{-1} (1). ‘Mascot’ - frutos verdes, não-feridos e inoculados com 1×10^4 conídios mL^{-1} (2); frutos verdes, feridos e inoculados com 1×10^4 conídios mL^{-1} (3); frutos maduros, não-feridos, inoculados nas quatro concentrações testadas (3); frutos maduros, feridos, inoculados nas quatro concentrações testadas (3); fruto com maturação fisiológica, não-ferido e inoculado com 1×10^4 conídios mL^{-1} (3); fruto com maturação fisiológica, ferido e inoculado com 1×10^4 conídios mL^{-1} (1);

Os frutos foram acondicionados em câmara de crescimento a 25°C , 12 horas de fotoperíodo e 80% de UR, durante 14 dias. Após este período a temperatura foi alterada para 15°C , os frutos permaneceram mais sete dias nesta temperatura. A formação de estruturas reprodutivas foi observada em microscópio estereoscópico binocular (lupa), aos sete, 14 e 21 dias após a coleta. Quando encontrado o conídio do *S. solani* oriundos das lesões, realizou-se o isolamento.

Para o isolamento, fragmentos do tecido do fruto, contendo a região limítrofe entre o tecido sadio e o lesionado, foram desinfetados com a sequência de álcool 70%, hipoclorito 0,5% e ADE (procedimento já relatado anteriormente). Os fragmentos foram depositados em placas de Petri contendo meio V8 ágar, e postos em câmara de crescimento a 25°C , fotoperíodo 12 horas. Aguardou-se o crescimento micelial e subsequente esporulação (com auxílio da lupa e microscópio) para se confirmar a presença do patógeno (*S. solani*).

Para a aferição da possível ocorrência de infecção natural de *S. solani*, coletaram-se frutos de 22 plantas de tomateiro, cultivar ‘Perinha Água Branca’, naturalmente infectadas pelo patógeno, em plantio na área experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO) no período de novembro de 2012. Os frutos em cada planta foram contabilizados e os que apresentavam alguma injúria ou lesão foram coletados e classificados de acordo com o grau de maturação (verde, maturação fisiológica e

maduro). Depois de identificados, os frutos foram colocados em câmara úmida no laboratório (da mesma forma do ensaio anterior). A presença de lesões e de conídios de *Stemphylium* foi avaliada na lupa até a senescência dos frutos.

Os resultados foram apresentados utilizando análises descritivas dos dados.

10.2.4 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* e do período de molhamento na infecção de plantas cultivadas em casa-de-vegetação

O efeito de diferentes concentrações de suspensão de inóculo (1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1}) do patógeno (isolado SENA302) e períodos de molhamento (12, 24 e 48 horas) foi verificado em dois ensaios. Inicialmente as plantas foram mantidas em bandejas de plástico de 150 células e depois em copos de 200 mL (adaptado de SANTOS, 1999). No primeiro ensaio, as sementes das cultivares 'Santa Clara' (resistente) e 'Débora Plus' (suscetível) foram semeadas em bandejas plásticas de 180 células, contendo substrato. A inoculação da suspensão foi realizada, nas concentrações mencionadas, por aspersão, quando as plantas continham um par de folhas verdadeiras. Após a inoculação as plantas permaneceram em câmara úmida durante os períodos pré-determinados (12; 24 e 48 horas). A condição de umidade foi fornecida por um nebulizador e cobertura plástica.

Após três dias da inoculação e em dias alternados até 11º dia, com o aparecimento dos sintomas foi quantificado: o número e diâmetro médio das lesões e a severidade, esta última com o uso da escala diagramática de Boff *et al.* (1991).

Após o primeiro ensaio, plantas com aspecto padronizado (a exemplo, tamanho) foram transplantadas para copos plásticos de 500 mL contendo solo e esterco (proporção 3:1) e inoculadas após o seu pegamento (10/10/2012) quando apresentavam entre cinco a seis folhas definitivas completamente expandidas (ensaio 2). A condição de umidade foi fornecida por um nebulizador e cobertura plástica, sendo as plantas expostas aos tratamentos de 12, 24 e 48 horas de período de molhamento foliar. A severidade foi avaliada com o uso da escala diagramática de Boff *et al.* (1991), a partir do terceiro dia após a inoculação e prosseguiu até aos 13 DAI.

No primeiro ensaio o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, a parcela experimental foi composta por uma planta, com oito repetições. Os dados da severidade foram integralizados no tempo para calcular a Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade (AACPS) (SHANER & FINNEY, 1977). Multiplicou-se o número de lesões por seu diâmetro, obtendo assim uma nova variável para o cálculo da AACPL. Os dados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância (ANOVA); para a distinção dos genótipos utilizou-se o teste *t*; para a separação das médias entre os períodos de molhamento utilizou-se o teste Tukey; para avaliação do efeito da concentração de conídios utilizou-se análise de regressão testando o modelo linear e o quadrático. Em todas as análises optou-se pelo $p < 0.05$ e o programa SISVAR. O modelo selecionado considerou o *p*-valor e o coeficiente de determinação (R^2). Quando adequado foi plotada a linha de tendência e os dados do modelo e o R^2 apresentados em tabela. Os dados foram transformados por $\sqrt{x + 1}$.

Para o segundo ensaio optou-se pelo delineamento blocos ao acaso, devido à variação do ambiente, com quatro repetições e uma planta por parcela. Foi obtida a AACPS, a qual foi submetida à análise de variância (ANOVA) e os dados foram tratados do mesmo modo que o ensaio anterior.

Na análise dos dois ensaios foram desprezados os valores da testemunha não inoculada, devido à ausência de infecção. A linha de tendência dos dados foi adicionada na presença de regressão significativa ($p < 0,05$) e as informações (quadrado médio, coeficiente de determinação (R^2) e *p*-valor) foram apresentadas em uma tabela. Adicionalmente, a

temperatura (°C) e a umidade relativa (%) foram monitoradas com USBdatalogger para correlação entre os dados da epidemia e apresentadas na forma de gráficos.

10.3 Efeito da temperatura na infecção do *S. solani* em plantas de tomateiro, sob condições de câmara de crescimento

Uma das dificuldades enfrentadas no estudo com a mancha-de-estenfílio em tomateiro foi a instalação dos ensaios em casa-de-vegetação, devido à grande oscilação de temperatura e umidade relativa; e ainda, no período da primavera/verão a ocorrência de temperaturas muito elevadas. Desta forma, optou-se pela instalação de ensaios em condições controladas (câmara de crescimento). E um novo ensaio foi delineado para além de estudar a mancha-de-estenfílio em tomateiro frente a diferentes temperaturas, obter uma condição ideal para a instalação destes ensaios e formar um protocolo.

As cultivares de tomate cereja ‘Perinha Água Branca’ (suscetível) e ‘Mascot’ (resistente) foram semeadas em bandejas de polipropileno 128 células contendo substrato comercial Plantmax® mais substrato orgânico constituído por vermicomposto, carvão vegetal e torta de mamona (OLIVEIRA, 2011) na proporção 1:1. Ao atingir um par de folhas verdadeiras, as plantas foram transplantadas para copos plásticos de 110 mL. Após 24 horas de aclimação em suas respectivas temperaturas de tratamento (15; 20; 25; 28 e 30°C, todos com 12 horas de fotoperíodo), as plantas foram inoculadas com suspensão conidial de *S. solani* na concentração de 1×10^4 conídios mL⁻¹, por aspersão até ponto de escorrimento. As plantas permaneceram em câmara de crescimento regulada para umidade relativa de 100% durante 48 horas, em suas respectivas temperaturas. Após este período a umidade relativa foi ajustada para 80%. Durante o estabelecimento do ensaio adicionou-se, em dois momentos (1º e 2º semana), 5 mL por planta de solução nutritiva diluída na proporção 1:2,5 da solução estoque (101,1 g de KNO₃ e 136,1 g de KH₂PO₄). Devido ao tamanho da amostra e as diferentes condições (temperatura) a serem ofertadas foi instalado um ensaio por temperatura de cada vez.

A severidade da mancha-de-estenfílio foi avaliada nos três folíolos terminais de cada folha, duas folhas por planta, utilizando a escala diagramática de Boff *et al.* (1991). A avaliação iniciou-se no terceiro dia após a inoculação (DAI) e prosseguiu em dias alternados até 15 DAI. Também foi mensurado o número de lesões e o crescimento das mesmas. O período de incubação (período compreendido entre a inoculação e a observação dos sintomas) e o latente (período compreendido entre a inoculação e a observação da esporulação) foram obtidos. Observou-se que nem sempre a formação do conidióforo estava exatamente dentro da lesão, gerando dificuldades em quantificar 50% das lesões esporulantes. Assim, adotou-se o seguinte critério, o período latente foi obtido em relação às plantas com esporulação (50%).

Para análise de dados, o número das lesões foi multiplicado pelo diâmetro médio para obtenção de uma variável referente ao progresso da lesão. Com a mesma foi calculada a AACPL (SHANER & FINNEY, 1977). Os dados da severidade foram utilizados para o cálculo da AACPS. Os dados de todas as variáveis foram submetidos à análise de variância (ANOVA), testou-se as regressões seguindo o modelo linear e o quadrático para efeito da temperatura, e para a comparação das cultivares utilizou-se o teste *t* ($p < 0.05$). Com base no *p*-valor e no R², selecionou-se o modelo que melhor se adequou aos dados. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, 10 plantas por genótipo em cada bloco, sendo três blocos.

Considerando os resultados obtidos, optou-se pela instalação de mais um experimento, utilizando a temperatura de 25°C para o período diurno e 15°C para o noturno. O qual foi comparado com a temperatura de 25°C. Adotou-se o mesmo procedimento para a instalação e

avaliação dos ensaios anteriores. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e utilizou-se o teste t ($p < 0.05$) para comparação das médias.

10.4 Efeito da duração do período de molhamento foliar na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro sob condições de câmara de crescimento

Sementes das cultivares ‘Perinha Água Branca’ (suscetível) e ‘Mascot’ (resistente) foram semeadas em bandejas de polipropileno 128 células contendo substrato comercial Plantmax® mais substrato orgânico (constituído por vermicomposto, carvão vegetal e torta de mamona) (OLIVEIRA, 2011) na proporção 1:1. Ao atingir o estágio de um par de folhas verdadeiras, as plantas foram transplantadas para copos plásticos de 110 mL. As plantas foram inoculadas com suspensão conidial de *S. solani* na concentração de 10^4 conídios por mL, por aspersão até ponto de escorrimento e permaneceram em câmara de crescimento, com umidade relativa de 100%, para evitar a secagem da água nas folhas. Após o período estabelecido para o molhamento (2; 6; 16; 24 e 48 horas), as gotas de suspensão foram secas em corrente de ar, em ambiente aberto. Após a finalização do período de molhamento (tempo de aproximadamente 20 minutos), as plantas voltaram para a câmara de crescimento regulada para 50% de umidade relativa. A condição fornecida durante todo o ensaio foi de 25°C para o período diurno e 15°C para o noturno, utilizando como critério de escolha os resultados obtidos no ensaio do item 10.3 (ensaio anterior), com 12 horas de fotoperíodo. Para fornecimento de macro e micronutrientes, adicionou-se na primeira semana 5 mL por planta de solução nutritiva diluída na proporção 1:2,5 (101,1 g de KNO_3 e 136,1 g de KH_2PO_4 por litro). Devido ao tamanho da amostra e as diferentes condições a serem testadas avaliou-se cada período de molhamento separadamente.

A avaliação iniciou-se no segundo dia e prosseguiu em dias alternados até o décimo dia, totalizando cinco avaliações. Nestas avaliações, anotou-se o número de dias até o surgimento das lesões e da esporulação obtendo-se assim, o período de incubação (PI) e o período latente (PL), respectivamente. Nos blocos onde não foi possível calcular o PI, devido à ausência de lesões nas folhas, foi retirado o bloco da análise de dados. O número de lesões e seu diâmetro foram mensurados e a severidade foi estimada utilizando-se a escala diagramática de Boff *et al.* (1991), em três folíolos terminais de cada folha, duas folhas por planta. Multiplicou-se número pelo diâmetro médio das lesões para se obter a variável referente ao progresso das lesões, com a qual foi calculada a AACPL (SHANER & FINNEY, 1977). Os dados da severidade foram utilizados para o cálculo da AACPS.

Adotou-se o delineamento de blocos ao acaso, com três repetições e 10 plantas por parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e testou-se a regressão linear e a quadrática para efeito do período de molhamento e para comparação entre genótipos utilizou-se o teste t ($p < 0.05$) (SISVAR). Os dados foram transformados por $\sqrt{x + 1}$. As regressões estatisticamente significantes foram plotadas nos gráficos.

10.5 Efeito da concentração de conídios na infecção do *S. solani* em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento

O efeito da concentração de conídios na infecção de tomateiro por *S. solani* foi avaliado em dois ensaios. No primeiro, utilizaram-se as cultivares ‘Perinha Água Branca’ (suscetível) e ‘Mascot’ (resistente), ambas de tomate cereja. As sementes foram semeadas em bandejas de polipropileno de 128 células contendo substrato comercial Plantmax®. Após o semeio, esterco bovino curtido e cinzas foram peneirados sobre as bandejas. Ao atingir o estágio fenológico de um par de folhas verdadeiras, as plantas foram transplantadas para copos plásticos de 80 mL. A inoculação foi realizada por aspersão até ponto de escorrimento,

com suspensão conidial de *S. solani* nas concentrações de 5×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL^{-1} , mais a testemunha sem inoculação. Conforme os resultados verificados nos ensaios anteriores, estabeleceu-se que as plantas deveriam ser submetidas a temperatura alternada de 25 e 15°C (diurno/noturno), com 12 horas de fotoperíodo, e permanecer na câmara de crescimento com umidade relativa de 100% durante 24 horas de molhamento. Após este período a umidade relativa foi ajustada para 50%. Na primeira semana de estabelecimento do ensaio foram adicionados 5 mL em cada planta de uma solução nutritiva diluída na proporção 1:2,5 da solução estoque (101,1 g de KNO_3 e 136,1 g de KH_2PO_4 por Litro).

As avaliações iniciaram-se no segundo dia e prosseguiram em dias alternados até o décimo dia, totalizando cinco avaliações. As variáveis obtidas foram: período de incubação; período latente; número e diâmetro das lesões e a severidade (com o uso da escala diagramática de Boff *et al.*, 1991). A metodologia de avaliação seguiu a mesma adotada nos ensaios anteriores. Para análise de dados o número das lesões foi multiplicado pelo diâmetro médio para obtenção de uma variável referente ao progresso das lesões e com a mesma foi calculada a AACPL (SHANER & FINNEY, 1977). Os dados da severidade foram utilizados para o cálculo da AACPS.

No segundo ensaio, adotou-se a mesma metodologia de condução e avaliação do ensaio anterior, alterando apenas as concentrações utilizadas na inoculação: 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} , mais a testemunha sem inoculação.

O delineamento experimental dos dois ensaios foi em blocos ao acaso com três repetições e duas plantas por parcela. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), os dados foram ajustados de acordo com o modelo linear e o quadrático e para comparação entre os genótipos utilizou-se o teste *t* ($p < 0.05$) (SISVAR). Os dados foram transformados por $\sqrt{x + 1}$. As regressões estatisticamente significantes foram plotadas nos gráficos. Na testemunha não houve infecção e os dados da mesma não foram considerados na análise de dados.

10.6. Efeito da concentração de conídios na infecção de frutos de tomateiro por *S. solani*, em câmara de crescimento

Uma vez comprovado nos ensaios preliminares (item 10.2.3) que o *S. solani* é capaz de infectar frutos de tomate; o processo de infecção foi estudado frente a diferentes concentrações de suspensão conidial. Também se verificou se a presença de ferimentos favorecia a infecção. Para isto, frutos de tomate cereja da cultivar 'Perinha Água Branca', suscetível à mancha-de-estenfílio, foram colhidos e higienizados em água corrente. Aqueles que não possuíam qualquer tipo de injúria, danos ou sinal de amolecimento, foram selecionados e tratados com hipoclorito a 0,5% por um minuto e enxaguados em ADE. Na sequência, os frutos foram acomodados em caixas plásticas tipo gerbox, previamente esterilizadas em luz ultravioleta, contendo duas folhas de papel germitest umedecidas com ADE até ponto de saturação. Nos tratamentos com ferimento, perfuraram-se os frutos em três pontos com estilete esterilizado em chama.

Os frutos foram inoculados por meio de aspersão nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} , mais a testemunha com água e com presença e ausência de ferimentos. Em seguida, estes foram acomodados em câmara de crescimento na temperatura de 25/15°C (diurno/noturno), com 12 horas de fotoperíodo. No sétimo dia, contabilizou-se o número de frutos infectados e a presença de esporulação. Este procedimento foi repetido ao 14 e 21º dia. Na segunda avaliação, retirou-se uma amostra (um gerbox por tratamento) para realizar isolamento. O mesmo foi realizado na terceira avaliação com todas as amostras que

apresentavam lesões. Após o 14º dia os frutos foram submetidos à temperatura constante de 15°C, para fomentar a esporulação.

Para o isolamento, fragmentos contendo tecido doente e sadio foram tratados com solução de álcool 70%, hipoclorito 0,5%, ambos por 30 segundos e enxaguados duas vezes em ADE. Estes pedaços foram colocados em placas de Petri contendo meio V8 e mantidos a 15°C, com o fotoperíodo de 12 horas. Observou-se a formação de estruturas reprodutivas que identificaram o patógeno, tanto em lupa como em microscópio. Os dados da incidência (%) de lesões nos frutos foram integralizados no tempo para calcular a AACPD (SHANER & FINNEY, 1977).

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições, a parcela experimental foi composta por um gerbox, o qual continha quatro frutos. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), utilizou-se o teste *t* para verificar o efeito da presença de ferimentos, e para concentração de conídios testaram-se as seguintes regressões: linear e quadrática ($p < 0.05$) (SISVAR). A AACPD foi apresentada em gráficos, e as regressões estatisticamente significantes foram expostas.

10.7 Efeito da idade da planta e da folha na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro

O efeito da idade da planta e da folha na infecção de tomateiro por *S. solani* foi estudado em dois ensaios. No primeiro, utilizaram-se plantas das cultivares ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’. As sementes foram semeadas em bandejas de polipropileno 128 células contendo substrato comercial Plantmax® mais o substrato orgânico constituído por vermicomposto, carvão vegetal e torta de mamona (OLIVEIRA, 2011) na proporção 1:1. O desenvolvimento das plantas foi monitorado considerando o número de dias após o semeio (DAS) e a idade das folhas. O cálculo da idade das folhas considerou quando a mesma encontrava-se expandida e com três centímetros de comprimento até o momento do início da avaliação. As plantas foram separadas em quatro estádios: com quatro, oito, 16 e 20 folhas expandidas (oito plantas por estádio de cada genótipo).

As plantas foram transplantadas para copos plásticos de 200 mL e após o estádio fenológico de oito folhas verdadeiras foram transferidas para vasos de dois litros contendo solo + esterco (3:1). No último estádio, as plantas foram transplantadas para vasos de oito litros contendo solo + esterco (3:1). As plantas foram tutoradas verticalmente com estacas nos vasos de dois litros e fitilho nos vasos de oito litros.

Ao atingir cada estádio (quatro, oito, 16 e 20 folhas expandidas), realizou-se a inoculação com suspensão conidial de *S. solani* (isolado SENA302) na concentração 10^4 conídios por mL. As plantas foram inoculadas com 32, 44 e 81 DAS para os estádios fenológicos com quatro, oito e 16 folhas da cultivar ‘Perinha Água Branca’. E com 38, 53 e 88 DAS para os estádios fenológicos com quatro, oito e 16 folhas do híbrido ‘Mascot’. Três dias após a inoculação (DAI) iniciou-se a avaliação por meio da quantificação do número de lesões, medição do diâmetro da lesão e do comprimento e largura da folha, as avaliações prosseguiram em dias alternados até o 11º dia. Em cada data de avaliação, com o auxílio de uma lupa, foi verificada a presença de esporulação para que posteriormente fosse obtido o período latente (PL). Também foi obtido o período de incubação (PI). Os dados de máxima, média e mínima da temperatura (°C) e da umidade relativa (%) foram monitorados com auxílio de um datalogger para correlação com a epidemia.

Para a avaliação dos dados foram obtidas as seguintes variáveis: AACPL - variável referente ao progresso da lesão, a qual se considerou o número de lesões multiplicado pelo diâmetro médio das lesões; Área Abaixo da Curva do Progresso Proporcional da lesão (AACPP) – considerando o valor referente ao progresso da lesão dividido pelo valor médio de

duas medidas perpendiculares da folha; PI – intervalo entre a inoculação e a observação dos sintomas e o PL período entre a inoculação e a presença de esporulação (considerando 50% das plantas com lesões esporulantes). O cálculo das áreas foi baseado em Shaner & Finney (1977).

O delineamento do ensaio foi inteiramente casualizado, em fatorial triplo (genótipo x estágio fenológico x idade da folha), com oito repetições por tratamento. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e para separação das médias utilizou-se o teste de Tukey ($p < 0.05$). Quando necessário, transformou-se o dados segundo $\sqrt{x} + 1$. Primeiramente, os estádios foram comparados utilizando os dados médios de todas as folhas por planta e na sequência analisou-se o progresso da doença na folha dentro de cada estágio.

No segundo ensaio, para evitar que as plantas dos diferentes estádios fossem submetidas a diferentes condições ambientais no momento da avaliação, como no ensaio anterior, realizou-se o plantio escalonado. Os genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’ foram semeados em bandejas de polipropileno 128 células contendo substrato comercial Plantmax® – hortaliças. O desenvolvimento das plantas foi monitorado, considerando o estágio fenológico das plantas, idade (em dias) das plantas e das folhas, da mesma forma que o primeiro ensaio. As plantas foram separadas em três estádios: três; 14 e 19 folhas expandidas (20 plantas por estágio de cada genótipo).

Conforme a necessidade de cada estágio fenológico as plantas foram cultivadas em copos plásticos de 200 mL (estádio de três folhas verdadeiras); vasos de dois (estádio de 14 folhas verdadeiras) e oito litros (estádio de 19 folhas verdadeiras), ambos contendo solo + esterco na proporção 3:1. As plantas foram tutoradas com estacas.

As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação climatizada regulada para 28°C. Anteriormente ao presente ensaio, foram realizados estudos com o patógeno e desta forma, o inóculo estava presente na área e a infecção ocorreu naturalmente, sem necessidade de inoculação. A severidade foi avaliada com a escala diagramática de Boff *et al.* (1991), nos três folíolos terminais de cada planta, em todas as folhas. A avaliação iniciou-se no dia 25/04 e prosseguiu nos dias 28/04; 01/05; 05/05 e 08/05/2014, totalizando cinco avaliações.

Os dados da severidade foram integralizados no tempo para calcular a AACPD (SHANER & FINNEY, 1977). O delineamento foi inteiramente casualizado, em fatorial triplo (genótipo x fase fenológica x idade da folha), com 20 repetições por tratamento. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e para a comparação entre os genótipos utilizou-se o teste *t* e para a comparação entre as estádios e as folhas o teste Tukey ($p < 0.05$). Para a análise do efeito entre os estádios fenológicos, considerou-se a média da AACPD por planta. O efeito entre as idades das folhas foi analisado dentro de cada estágio fenológica separadamente. Devido a queda natural das folhas, considerou-se os dados da severidade a partir da sétima folha para o estágio 1 (plantas com 19 folhas) e da quinta folha para o estágio 2 (plantas com 14 folhas). E ainda a AACPD foi relativizada pela duração da epidemia (AACPD dividida pelo número de dias do início da avaliação até a queda da folha).

11. RESULTADOS E DISCUSSÃO

11.1 Ensaios preliminares

11.1.1 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção em plântulas de tomateiro, em condição *in vitro*

As lesões foram observadas tanto nos cotilédones das plântulas cultivadas em tubos de ensaio como nas mantidas em caixas gerbox. Conforme o esperado, não houve infecção nas testemunhas não inoculadas, sendo os valores destas desprezados na análise de dados e na representação gráfica, para os dois ensaios.

No ensaio com plântulas mantidas em tubos, a análise estatística apontou efeito significativo apenas para genótipo (Tabela 4). De acordo com o teste *t*, a infecção foi maior em cotilédones de Dominador que de Serato, tanto nos valores médios e nas concentrações de 1×10^3 e 5×10^4 conídios em que as plântulas foram submetidas (Figura 5).

O resultado observado está de acordo com o encontrado por Reis & Boiteux (2006), que ao estudarem a suscetibilidade de 50 cultivares de tomate, classificaram os híbridos ‘Débora Plus’, ‘Carmem F₁’ e ‘Dominador’, como os mais suscetíveis. Em contrapartida, a maior incidência no Dominador quando comparado ao Serato, difere dos resultados obtidos por Domingues (2012). A autora classificou 10 genótipos em três grupos quanto a suscetibilidade à doença, destes o Dominador se enquadrava no grupo dos mais resistentes e Serato no grupo dos mais suscetíveis.

Tabela 4. Análise de variância referente a mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302), expressa pela Área Abaixo da Curva de progresso da Doença, em cotilédones de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Plântulas inoculadas com 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		Plântulas cultivadas em	
		Tubos de ensaio	Caixas Gerbox
Genótipo (GE)	1	11,17*	1,88*
Concentração (CC)	3	0,99	0,09
GE*CC	3	0,78	0,56*
Erro	24	11,44	0,18
CV (%)		16,23	11,02

Dados transformados por \sqrt{x} . *5% de probabilidade de erro.

A análise de regressão não apontou efeito significativo para regressões testadas (Figura 5 e Tabela 5). Ou seja, independente da concentração utilizada na inoculação, não afetou a incidência da doença (Figura 5A e B).

No ensaio com plântulas de tomateiro mantidas em caixas gerbox, a análise de variância apontou efeito estatístico significativo entre genótipos e a interação entre genótipos e as concentrações de conídios (Tabela 4). A incidência da doença foi maior no Dominador, quando comparado ao Serato, para os valores médios e na concentração de 1×10^3 conídios por mL (Figura 5). Nenhuma das regressões testadas apresentou diferença estatística significativa (Tabela 5 e Figura 5C e D).

Tabela 5. Análise de Regressão referente ao número de cotilédones infectados por *Stemphylium solani* (isolado SENA302) dos genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) Serato e Dominador, mantidos em tubos de ensaio e inoculados nas concentrações 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Plântulas mantidas em tubos de ensaio							
Fonte de Variação	GL	Serato		Dominador		Média	
		QM (<i>p</i> -valor)	R ²	QM (<i>p</i> -valor)	R ²	QM (<i>p</i> -valor)	R ²
Regressão linear	1	0,43 (<i>p</i> = 0,350)	0,25	0,00 (<i>p</i> = 0,946)	0,10	0,18 (<i>p</i> = 0,537)	0,19
Regressão quadrática	1	0,06 (<i>p</i> = 0,716)	0,28	0,00 (<i>p</i> = 0,952)	0,18	0,02 (<i>p</i> = 0,830)	0,21
Desvio	1	1,26 (<i>p</i> = 0,117)		0,02 (<i>p</i> = 0,850)		0,79 (<i>p</i> = 0,210)	
Erro	24	0,48		0,48		0,48	
Plântulas mantidas em caixas gerbox							
Regressão linear	1	0,60 (<i>p</i> = 0,080)	0,54	0,72 (<i>p</i> = 0,056)	0,85	0,00 (<i>p</i> = 0,900)	0,01
Regressão quadrática	1	0,00 (<i>p</i> = 0,902)	0,54	0,12 (<i>p</i> = 0,412)	0,99	0,04 (<i>p</i> = 0,620)	0,17
Desvio	1	0,50 (<i>p</i> = 0,105)		0,00 (<i>p</i> = 0,927)		0,22 (<i>p</i> = 0,272)	
Erro	24	0,18		0,18		0,18	

QM.: Quadrado médio. R²: Coeficiente de determinação. *5% de probabilidade de erro

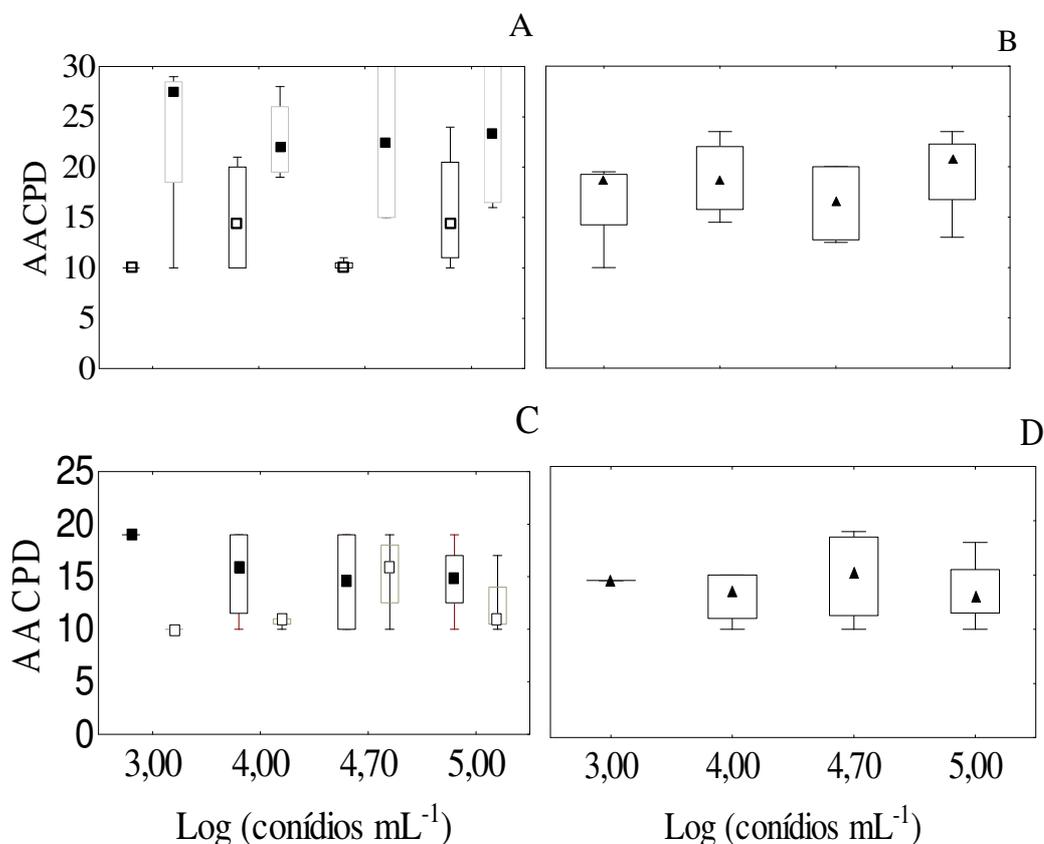


Figura 5. Mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em plântulas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) Serato (□) e Dominador (■), mantidas em tubos de ensaio (A e B) e em caixas gerbox (C e D) e inoculadas nas concentrações 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014. ▲ para média dos dois genótipos.

A maior incidência da mancha-de-estenfílio em plântulas do genótipo Dominador, tanto naquelas mantidas em tubos de ensaio, como nas mantidas em gerbox, discorda dos relatos de Domingues (2012) que apontam Serato como mais suscetível. Aliado a este fato está a dificuldade encontrada na avaliação da doença e também na inadequação da metodologia para discriminar o efeito de concentração da suspensão. Assim, deve-se estudar a adoção de outra metodologia para o estudo do efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção em tomateiro.

11.1.2 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção em folhas destacadas de tomateiro, *in vitro*

A análise estatística não apontou diferença estatística entre os genótipos avaliados e entre as concentrações de conídios de *S. solani*, nas quais foram submetidas as folhas, bem como, entre a interação entre estes dois fatores (Tabela 6). Não houve infecção nas testemunhas não inoculadas, sendo os valores destas desprezados na análise de dados e na representação gráfica. A AACPL apresentou aumento quando as folhas foram inoculadas com suspensões mais concentradas, atingindo o maior valor na concentração 5×10^4 conídios mL^{-1} (Figura 6). No entanto, nenhuma das regressões testadas foi significativa, desta forma a linha de tendência não foi adicionada ao gráfico.

Quanto à produção de conídios, nenhuma estrutura reprodutiva foi encontrada. Este resultado pode estar aliado a uma metodologia inadequada ou até mesmo à ausência de esporulação. Apesar dos conidióforos do *S. solani* serem visíveis em microscópio estereoscópico binocular (lupa), as folhas de tomateiro não foram examinadas. Assim, não é possível garantir a causa da ausência de conídios na suspensão. Logo, recomenda-se em ensaios futuros a investigação prévia da produção de conídios neste aparelho.

Deve-se, ainda, acrescentar que neste ensaio as folhas de tomateiro apresentaram rápida senescência e sinais de injúrias causadas pela assepsia e que estes danos prejudicaram as avaliações. Deste modo, esta metodologia não é adequada para ensaios com mancha-de-estenfílio em tomateiro.

Tabela 6. Análise de variância referente à infecção em folhas destacadas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’, pelo isolado SENA302 de *Stemphylium solani* nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} .

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio
		AACPL ^x
Genótipo	1	0,00
Concentração	3	1,26
Genótipo*Concentração	3	0,78
Erro	24	1,00
CV (%)		30,56

AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. *5% de probabilidade de erro. ^xDados transformados por $\sqrt{x + 1}$.

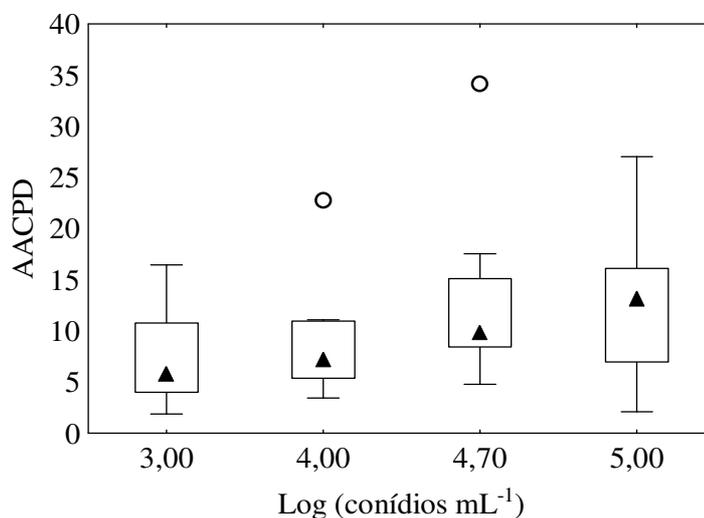


Figura 6. Folhas destacadas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’ (▲), inoculadas com o isolado SENA302 nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica – RJ, 2014. AACPL: Área Abaixo de Progresso da Lesão. ○ para outliers.

11.1.3 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* na infecção de frutos de tomateiro

No primeiro ensaio, com a inoculação do isolado SENA302 de *S. solani*, a infecção do ocorreu apenas nos frutos da cultivar suscetível, ‘Perinha Água Branca’. Conforme o esperado, não houve infecção nos frutos inoculados somente com água.

Na ausência de ferimentos, observou-se lesões apenas nos frutos maduros e inoculados com 1×10^5 conídios mL^{-1} . Ao passo que na presença de ferimentos, houve infecção em frutos verdes (inoculados com 1×10^4 conídios mL^{-1}) e maduros (inoculados com 1×10^3 e 1×10^4 conídios mL^{-1}). Estas observações comprovam que o *S. solani* ao ser inoculado em frutos de tomateiro é capaz de se estabelecer no mesmo, e a sua infecção é favorecida na presença de ferimentos, em frutos maduros e quando submetidos a suspensões mais concentradas de conídios.

No segundo ensaio, foram visualizados conídios de *S. solani* nas lesões de dois frutos, e o isolamento do tecido infectado comprovou que o fungo pertencia ao gênero *Stemphylium*. Os frutos pertenciam a duas plantas distintas, o que corresponde a 0,09% de todos os frutos avaliados ($n = 2200$) e a 25% dos frutos coletados. O intuito destas avaliações foi o de confirmar ou não os relatos de que o patógeno em estudo não é capaz de infectar os frutos (ROTEM & BASHI, 1977). E apesar da baixa incidência do fungo nos frutos, estes resultados contrariam a informação que o *S. solani* não infecta os frutos de tomateiro.

11.1.4 Efeito da concentração de conídios de *S. solani* e do período de molhamento na infecção de plantas de tomateiro em condições de casa-de-vegetação

No primeiro ensaio, com plantas cultivadas em bandejas, a análise de variância apontou efeito estatístico significativo apenas entre os genótipos, para as duas variáveis avaliadas, AACPS e AACPL (Tabela 7). Conforme o esperado, não houve infecção nas testemunhas inoculadas somente com água, sendo os valores destas desprezados na análise de dados e na representação gráfica.

A cultivar ‘Débora Plus’ apresentou maior AACPS e AACPL, comprovando a sua suscetibilidade ao patógeno. Ao passo que, a cultivar ‘Santa Clara’, com menor AACPS e AACPL, foi menos suscetível a doença (Figura 7). Confirmando o resultado obtido por Reis & Boiteux (2006), no qual enquadrava-se a ‘Débora Plus’ no grupo dos suscetíveis e a ‘Santa Clara’ no grupo dos resistentes.

A ausência de diferença estatística significativa para as demais fontes de variação pode estar associada ao alto coeficiente de variação registrado, aproximadamente 107%, mesmo com a transformação dos dados (Tabela 7). Na figura 10, observa-se a variação dos dados para AACPS e AACPL, onde não é possível explicar alguma tendência, tanto em relação ao período de molhamento, como para concentração de conídios. Devido a ausência de regressões significativas, não foi plotada a linha de tendência.

Tabela 7. Análise de variância referente à infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’, cultivadas em bandejas, inoculadas nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} , e submetidas com 12, 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica – RJ, 2014.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		AACPS	AACPL
Genótipo (GE)	1	19,16*	30,03*
Período de molhamento (PM)	2	1,99	1,35
Concentração (CC)	3	5,89	7,02
GE*PM	2	1,51	1,91
PM*CC	6	1,89	2,29
GE*CC	3	7,42	10,20
GE*PM*CC	6	4,22	4,18
Erro	168	3,50	3,85
CV (%)		107,71	109,04

AACPS.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade. AACCL.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Lesão. *5% de probabilidade de erro. Dados transformados por $\sqrt{x + 1}$. Avaliação realizadas aos 3; 5; 7; 9 e 11 dias após a inoculação.

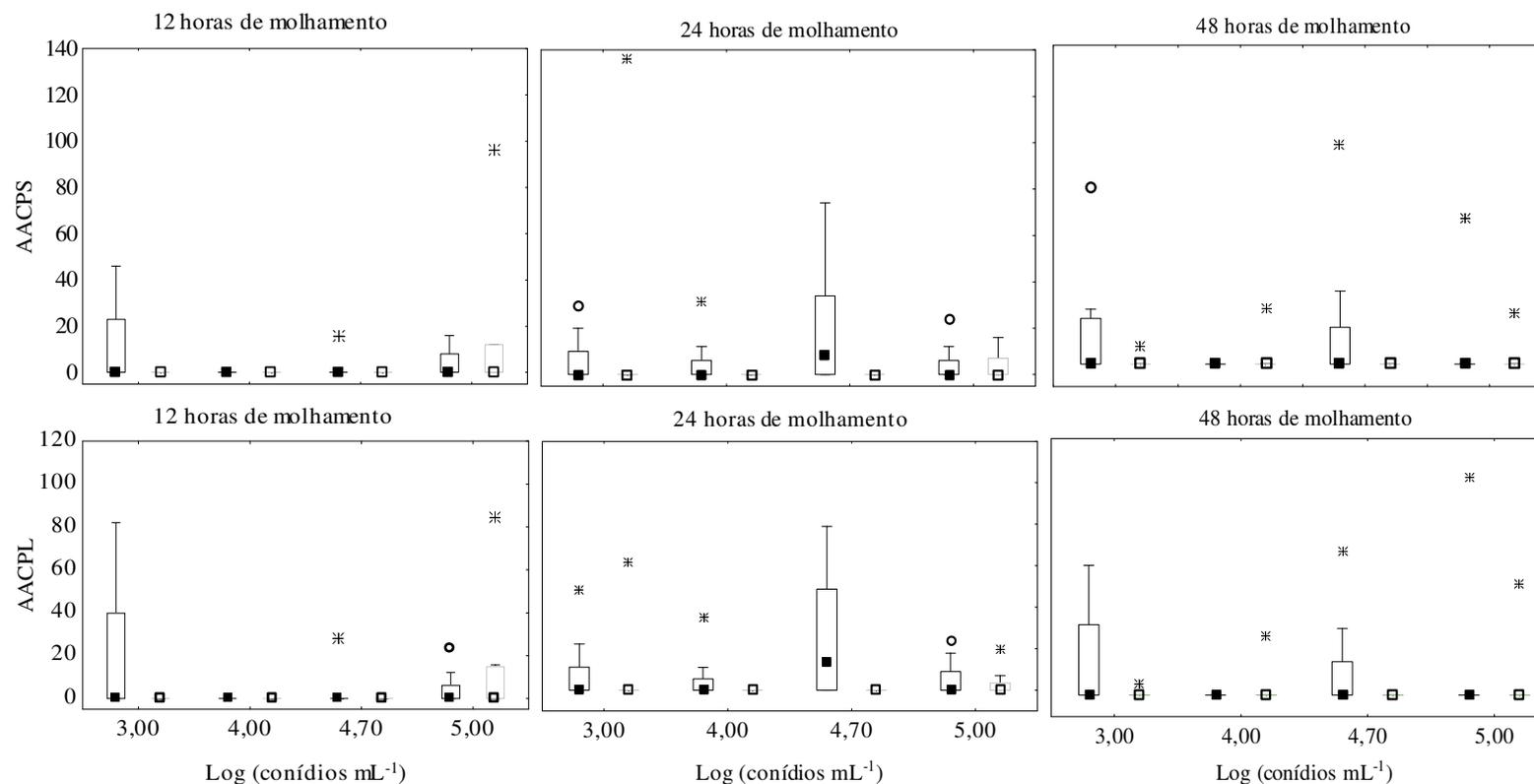


Figura 7. Infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Débora Plus’ (■) e ‘Santa Clara’ (□), cultivadas em bandejas e inoculadas nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹ com três períodos de molhamento. AACPS.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade. AACCL.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Lesão. Seropédica – RJ, 2014. Valores extremos (*) e outliers (o).

No segundo ensaio, com plantas mantidas em copos plásticos, a análise de variância apontou efeito estatístico significativo apenas para genótipos (Tabela 8). Em sua maioria, foram raros os casos de infecção na cultivar ‘Santa Clara’, comprovando a sua resistência à mancha-de-estenfílio, já relatada na literatura (KUROZAWA & PAVAN, 1997). Embora não tenha tido diferença estatística entre os períodos de molhamento, observaram-se infecções mais frequentes em plantas submetidas a 24 e 48 horas de molhamento do que quando submetidas a 12 horas de molhamento (Figura 8). Períodos prolongados de molhamento também foram indicados como ideais por Menzies *et al.* (1991), que constaram a máxima severidade de *Stemphylium* sp. em aspargo com 48 horas de molhamento

O efeito estatístico significativo para concentração de conídios não foi registrado, no entanto, a AACPS em plantas da cultivar suscetível, ‘Débora Plus’, apresentou uma tendência de aumento quando inoculadas com suspensões mais concentradas, exceto o período de molhamento de 12 horas (Figura 8). Devido à ausência de significância nas regressões testadas, não se adicionou linha de tendência. Contudo, observa-se que em plantas de ‘Débora Plus’, mantidas com 24 horas de molhamento (Figura 8), houve o aumento da doença na medida em que se utilizavam suspensões mais concentradas de conídios. Resultado semelhante ao verificado Vloutoglou & Kalogerakis (2000), onde a severidade da mancha de alternária (*Alternaria solani*) em plantas de tomate acompanhava o acréscimo das concentrações (5×10^2 ; 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹) nas suspensões.

Tabela 8. Análise de variância referente à infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Santa Clara’ e ‘Débora Plus’, cultivadas em copos plásticos. Plantas inoculadas nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹ e submetidas a 12, 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica – RJ, 2014.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio ^x
Bloco	3	1,30
Genótipo (GE)	1	4,75*
Período de molhamento (PM)	2	1,07
Concentração (CC)	3	0,64
GE*PM	2	0,63
GE*CC	3	0,16
PM*CC	6	0,39
GE*PM*CC	6	0,22
Erro	69	0,79
CV (%)		67,24

AACPS.: Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade. *5% de probabilidade de erro. Dados transformados por $\sqrt{x + 1}$. Avaliação realizada aos 14; 16; 19; 21 e 23 dias após a inoculação.

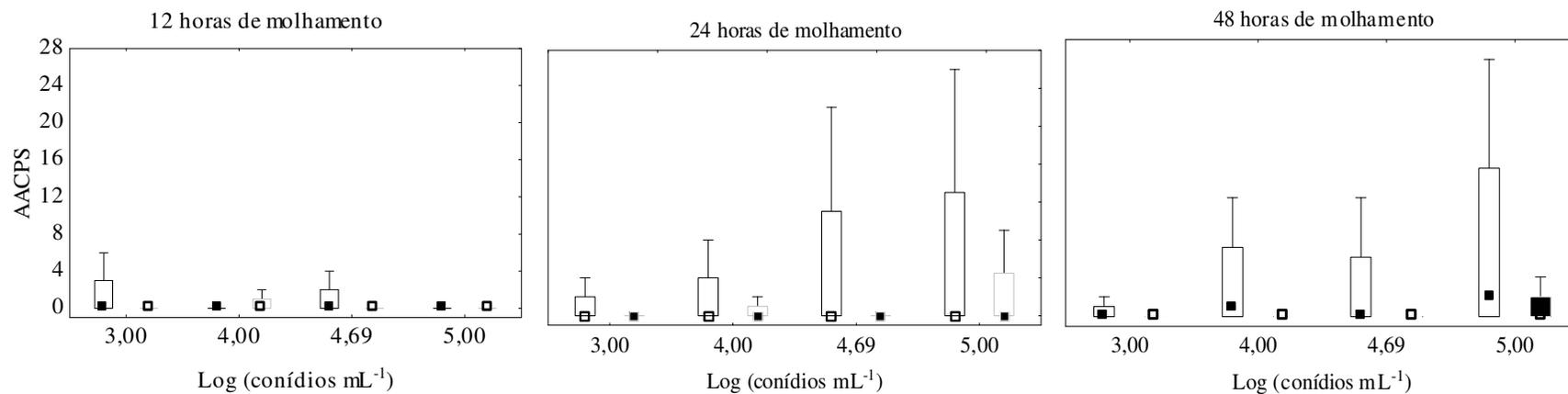


Figura 8. Mancha-de-estenflíio (*Stemphylium solani* - isolado SENA302), expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade (AACPS), em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) 'Santa Clara' (□) e 'Débora Plus' (■), cultivadas em copos plástico e inoculadas nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹ com três períodos de molhamento. Seropédica – RJ, 2014.

Durante o desenvolvimento do primeiro ensaio, as temperaturas mais baixas estavam em torno de 20°C, com mínima de 16,4°C e máxima de 49,9°C (Figura 9A). No campo, a condição de temperaturas entre 25 e 30°C com alta umidade relativa do ar são ideais para o desenvolvimento da doença (KLANZ, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997). A umidade relativa (UR) variou muito, de 90 até próxima de 20%, com máxima de 97% e mínima de 15% (Figura 9B).

No segundo ensaio, foram observadas temperaturas médias próximas de 30°C, com picos próximos de 45°C (Figura 9C). Altas temperaturas podem prejudicar o desenvolvimento do fungo, conforme o verificado no capítulo I, onde não houve crescimento micelial à 35°C. A oscilação da UR e principalmente a umidade mínima registrada podem ter afetado negativamente o desenvolvimento da doença (Figura 9D). Alguns autores indicam que a UR a 100% favorece a esporulação do patógeno (PAULUS & POUND, 1955).

A grande oscilação de temperatura e umidade pode ter contribuído para a presença de poucos sintomas e também para o alto coeficiente de variação na análise estatística, o que prejudicou a obtenção de resultados confiáveis. Assim, preconiza-se a condução de ensaios futuros em uma época com menor flutuação das condições climáticas ou mesmo, a instalação de ensaios em condições controladas.

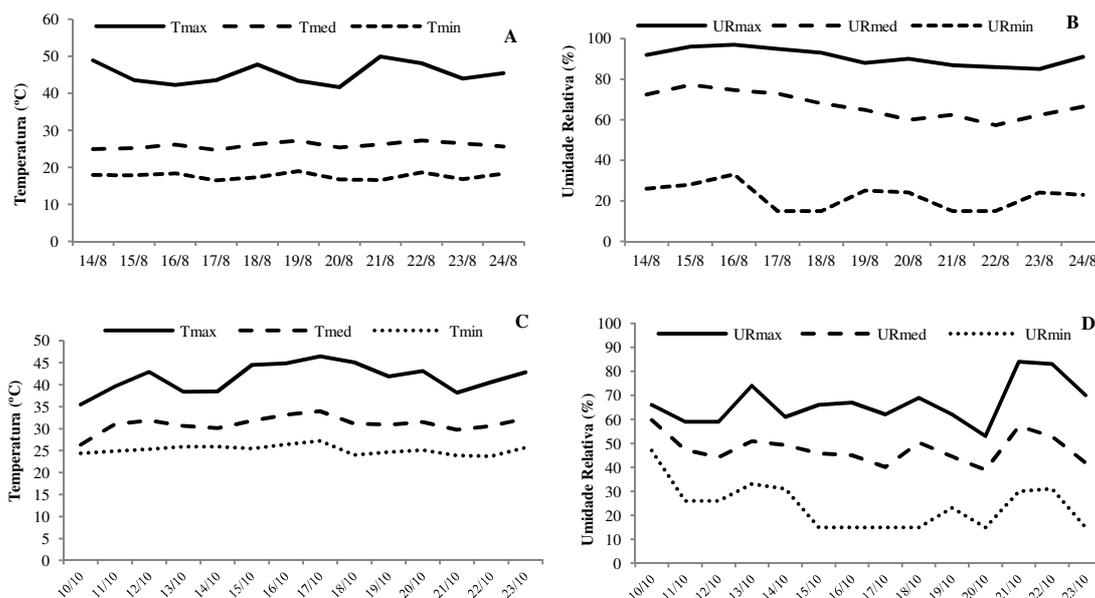


Figura 9. Dados climáticos de temperatura (A e C) e umidade relativa (B e D), da casa-de-vegetação, no período de 14 a 24 de agosto (linha superior) e 10 a 23 de outubro (linha inferior) de 2012. Seropédica-RJ.

11.2 Efeito da temperatura na infecção do *S. solani* em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento

A análise de variância apontou diferença estatística apenas entre genótipos para período de incubação. Para as variáveis, AACPL e AACPS, não houve efeito significativo para as fontes de variação testadas (Tabela 9). O período latente não foi submetido à análise de variância, pois se observou, em muitos casos, a ausência de plantas com lesões da mancha-de-estenfílio com esporulação e também o número de plantas com lesões esporulantes, em cada temperatura, não atingiu 50% do total de plantas avaliadas. Desta forma, a análise

descritiva dos dados encontra-se na figura 10F, onde se observa o período latente obtido nas temperaturas 15 e 28°C, da cultivar ‘Perinha Água Branca’. Nestas temperaturas, pode-se calcular o período latente apenas em um dos blocos, nos dois demais o número de plantas com lesões esporulantes não atingiu 50% do total. E ainda, na cultivar ‘Mascot’ não se observou a formação de estruturas reprodutivas em quaisquer das temperaturas estudadas.

Tabela 9. Análise de variância de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), dos genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, infectadas por *Stemphylium solani* (isolado SENA302) e mantidas nas temperaturas contínuas de 15, 20, 25, 28 e 30°C e alternada de 25 e 15°C (diurno e noturno). Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio ^x		
		AACPL	AACPS	Período de Incubação
Bloco	2	0,51	1,13	0,04
Genótipo	1	0,33	1,12	0,69*
Temperatura	4	0,88	1,01	0,04
Genótipo*temperatura	5	0,62	1,52	0,14
Erro	18	0,43	0,68	0,08
CV (%)		37,91	33,20	9,37

^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. *5% de probabilidade de erro. AACPS= Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade. AACDL = Área Abaixo da Curva do Desenvolvimento da Lesão. CV = Coeficiente de variação.

Ao se comparar as cultivares dentro de cada temperatura a que foram submetidas, observa-se que o desenvolvimento das lesões, considerando a AACPL, e a severidade (AACPS) foram maiores na cultivar ‘Perinha Água Branca’, quando comparada ao ‘Mascot’, em plantas mantidas à 25°C (Figura 10A e C).

O período de incubação foi menor em plantas ‘Perinha Água Branca’ mantidas a 15 e 25°C, quando comparadas ao ‘Mascot’ (Figura 10E). Cabe aqui ressaltar que a presença de lesões em plantas resistentes à mancha-de-estenfílio também foi relatada por Bentes & Matsuoka (2005). No estudo em questão, os autores observaram pequenas lesões necróticas no material resistente (tomateiro Motelle), levantando a suspeita do envolvimento de reação de hipersensibilidade.

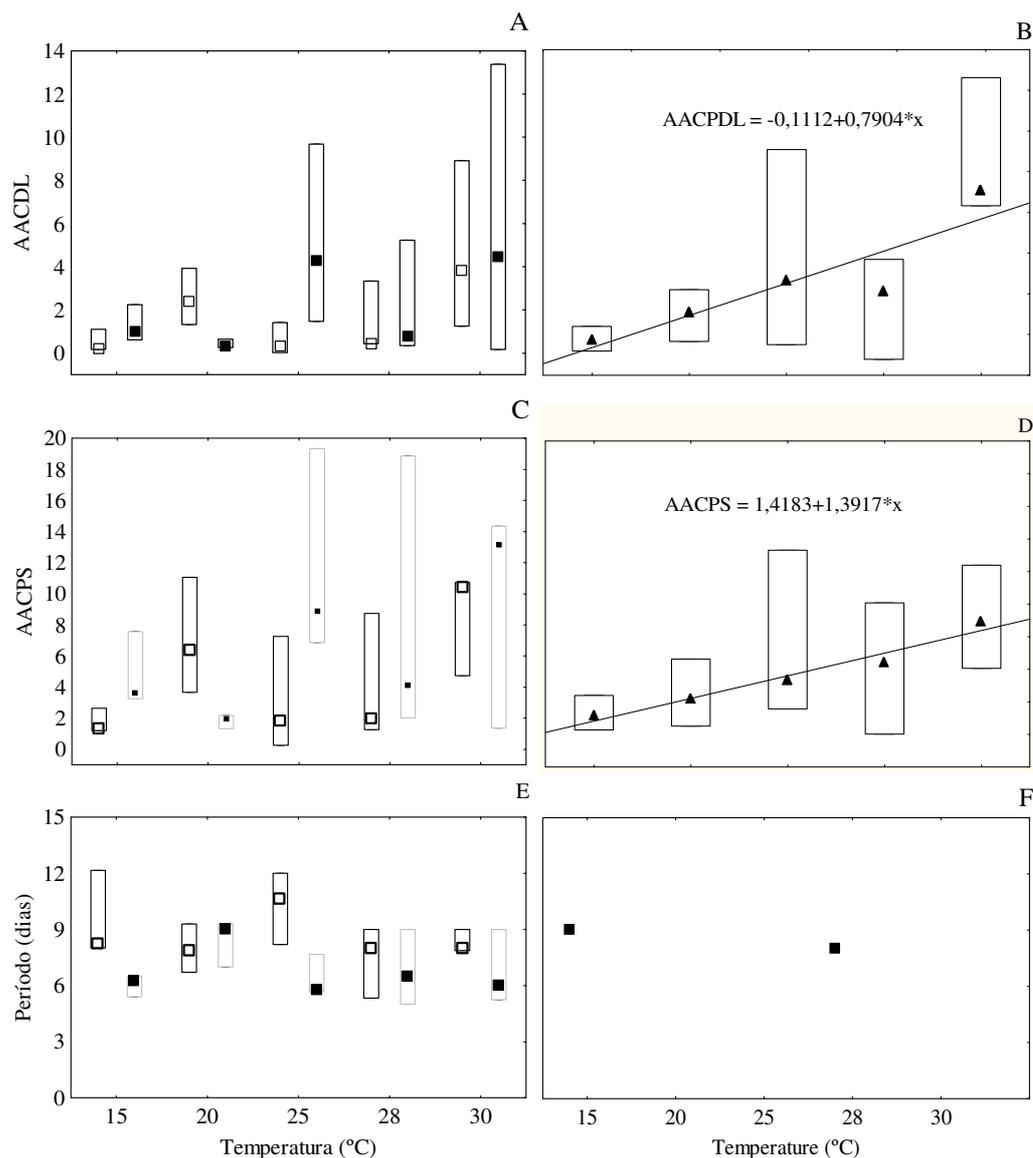


Figura 10. Área Abaixo da Curva de progresso da Lesão (AACPL – A e B) e da Severidade (AACPS – C e D), e período de incubação (E) e latente (F) de plantas de ‘Perinha Água Branca’ (■) e ‘Mascot’ (□) inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) e mantidas nas temperaturas de 15; 20; 25; 28 e 30°C. Seropédica-RJ, 2014. ▲ para médias dos dois genótipos.

Na tabela 10, estão apresentados dados, como o quadrado médio, o p -valor e o coeficiente de determinação (R^2), das regressões testadas. Para regressões significativas, adicionou-se a linha de tendência nos gráficos, como a regressão linear para a AACPL ($y = 0,2211x - 2,7487$) e para a AACPS ($y = 0,3481x - 2,1393$), utilizando juntamente os dados da ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’. Estas variáveis aumentaram com o acréscimo das temperaturas, sendo os menores valores observados na temperatura 15°C (Figura 10B e D). O atraso na epidemia em baixas temperaturas também foi reportado por Mwakutuya & Banniza (2010), em plantas de lentilhas inoculadas com *S. botryosum* e incubadas à 10°C. Por outro lado, Menzies *et al.* (1991) reportaram que plantas de aspargo incubadas à 14°C, durante o período de três dias de infecção, apresentaram níveis de infecção mais altos do que aquelas mantidas à 20 ou 26°C, durante o mesmo período.

Tabela 10. Análise de Regressão referente à infecção em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, pelo isolado SENA302 de *Stemphylium solani*, mantidas nas temperaturas contínuas de 15; 20; 25; 28 e 30°C. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	AACPL					
		‘Mascot’		Perinha		Média	
		QM	R ²	QM	R ²	QM	R ²
Regressão linear	1	0,69 (<i>p</i> = 0,220)	0,27	1,59 (<i>p</i> = 0,060)	0,44	2,19 (<i>p</i> = 0,036)	0,61
Regressão quadrática	1	0,11(<i>p</i> = 0,608)	0,32	0,01(<i>p</i> = 0,648)	0,47	0,21 (<i>p</i> = 0,495)	0,67
Desvio	1	0,00 (<i>p</i> = 0,975)		1,65(<i>p</i> = 0,064)		0,80 (<i>p</i> = 0,187)	
Erro	18	0,43		0,43		0,43	
		AACPS					
Regressão linear	1	1,36 (<i>p</i> = 0,214)	0,25	2,20 (<i>p</i> = 0,090)	0,38	3,25 (<i>p</i> = 0,043)	0,80
Regressão quadrática	1	0,00 (<i>p</i> = 0,965)	0,25	0,07 (<i>p</i> = 0,757)	0,39	0,04 (<i>p</i> = 0,803)	0,81
Desvio	1	0,00 (<i>p</i> = 0,961)		1,48 (<i>p</i> = 0,158)		0,69 (<i>p</i> = 0,328)	
Erro	18	0,68		0,68		0,68	
		Período de Incubação					
Regressão linear	1	0,06 (<i>p</i> = 0,395)	0,14	0,00 (<i>p</i> = 0,920)	0,26	0,03 (<i>p</i> = 0,500)	0,22
Regressão quadrática	1	0,00 (<i>p</i> = 0,942)	0,14	0,04 (<i>p</i> = 0,490)	0,12	0,02 (<i>p</i> = 0,589)	0,37
Desvio	1	0,34 (<i>p</i> = 0,048)		0,13 (<i>p</i> = 0,212)		0,03 (<i>p</i> = 0,565)	
Erro	18	0,08		0,08		0,07	

AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão.AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. QM.: Quadrado médio. R²: Coeficiente de determinação.

A temperatura de 25°C proporcionou o desenvolvimento da mancha-de-estenfílio e a distinção entre a cultivar suscetível ('Perinha Água Branca') da resistente ('Mascot'). O favorecimento na infecção de *S. vesicarium* em aspargos (*Asparagus officinalis* L.) incubados à 25°C com 48 horas de alta umidade também foi relatada por Falloon *et al.* (1987). Deste modo, o progresso da doença à 25°C foi confrontado com os dados obtidos em plantas incubadas em condição de temperaturas alternadas de 25°C durante o dia e 15°C durante a noite.

A análise de variância apontou efeito estatístico significativo entre genótipos, temperaturas, blocos e a interação dos dois primeiros fatores para AACPL e AACPS. Houve diferença estatística entre genótipos e temperaturas para período de incubação (Tabela 11). O período latente não foi submetido a análise de variância, pois na temperatura contínua de 25°C não houve esporulação. Já com o uso alternado das temperaturas (25/15°C), o período latente médio foi de 9,75 dias. O cálculo desta variável foi possível, pois em todos os blocos havia pelo menos 50%, das plantas com lesões esporulantes. Os períodos latentes em cada bloco foram 6,25; 10 e 13 dias para os blocos 1, 2 e 3, respectivamente. De acordo com alguns autores, em condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento da mancha-de-estenfílio, os sintomas da doença podem aparecer dois a três dias, e a esporulação das lesões também ocorrem de dois a três dias (ROTEM & BASHI, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997). Assim, do início da infecção até a esporulação decorrem seis dias, período latente próximo do obtido no bloco 1, e menor que o período médio calculado para o tratamento com 25°C durante o dia e 15°C durante a noite.

Tabela 11. Análise de variância de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), dos genótipos 'Mascot' e 'Perinha Água Branca', infectadas por *Stemphylium solani* (isolado SENA302) e mantidas na temperatura contínua de 25°C e alternada de 25 (diurno)/15°C (noturno). Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio ^x		
		AACPL	AACPS	Período de Incubação
Bloco	2	3,17*	2,95*	0,05
Genótipo	1	26,63*	35,34*	1,24*
Temperatura	1	30,79*	36,45*	1,42*
Genótipo*temperatura	1	10,17*	10,14*	0,00
Erro	6	0,60	0,13	0,03
CV (%)		22,65	8,18	6,62

^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. *5% de probabilidade de erro. AACPS= Área Abaixo da Curva do Progresso da Severidade. AACDL = Área Abaixo da Curva do Desenvolvimento da Lesão. CV = Coeficiente de variação.

Considerando os dados médios, a cultivar 'Perinha Água Branca' apresentou maior AACPL e AACPS e também menor período de incubação, quando comparada ao 'Mascot' (Tabela 12). Este resultado comprova suscetibilidade da 'Perinha Água Branca' à mancha-de-estenfílio, conforme o já observado neste trabalho e também relatado por outra autora (DOMINGUES, 2012).

O desenvolvimento da lesão, representado pela AACPL e AACPS, foi favorecido com o uso alternado das temperaturas de 25°C no período diurno e 15°C no noturno, quando comparado com 25°C contínuo (Tabela 12). Não houve diferença estatística entre as temperaturas para o período de incubação.

De acordo com o desdobramento da análise de dados, o período de incubação foi menor na 'Perinha Água Branca', nas duas condições de temperatura testadas (Tabela 12). E ainda, o período de três dias, obtido quando utilizadas as temperaturas de 25 e 15°C

alternadas, para surgimento de uma lesão está de acordo com o relatado na literatura (ROTEM & BASHI, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997).

As plantas de 'Perinha Água Branca' submetidas à temperaturas alternadas de 25°C diurno e 15°C noturno apresentaram maior AACPL e AACPS (Tabela 11). Da mesma forma, plantas de 'Perinha Água Branca' mantidas a 25°C contínuo apresentaram maior AACPS que as de 'Mascot'.

O período de incubação foi menor tanto em plantas de 'Perinha Água Branca' como em plantas de 'Mascot', no tratamento com o uso alternado de temperaturas quando comparado à 25°C contínuo (Tabela 12). O mesmo foi observado na AACPL em 'Perinha Água Branca' e AACPS nos dois genótipos. Não houve diferença estatística entre os tratamentos de temperatura para AACPL no 'Mascot'.

O favorecimento do desenvolvimento da mancha-de-estenfílio nas temperaturas alternadas de 25/15°C pode estar relacionado com as condições favoráveis ao desenvolvimento do tomateiro. Principalmente ao considerar que, o patógeno co-evoluiu com o hospedeiro. Segundo Sedyama *et al.* (2003), as condições ideais para a produção de tomate são aquelas com temperaturas médias noturnas de 18°C e diurnas próximas de 25°C.

Os resultados apresentados permitem afirmar que há o maior progresso da doença em 'Perinha Água Branca', suscetível ao *S. solani*. E ainda, a doença é favorecida pela alternância de temperaturas diurnas e noturnas (25 e 15°C, respectivamente), sendo esta condição indicada para uso na metodologia em trabalhos futuros.

Tabela 12. Mancha-de-estenfilio em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), dos genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, mantidas na temperatura contínua de 25°C e alternada de 25 (diurno)/15°C (noturno). Seropédica-RJ, Brasil, 2014^x

Temperaturas	Período de incubação (dias)			AACPL			AACPS		
	PAB	MAS	Média	PAB	MAS	Média	PAB	MAS	Média
25°C contínuo	6,36 B a	10,27 A a	8,31 a	5,15 A b	0,59 A a	2,87 b	11,69 A b	3,11 B b	7,40 b
25°C/15°C alternados	3,07 B b	6,10 A b	4,58 a	56,57 A a	6,12 B a	31,35 a	77,40 A a	11,90 B a	44,65 a
Média	4,71 B	8,18 A		30,86 A	3,35 B		44,54 A	7,51 B	

^x Médias seguidas de letras distintas diferem-se entre si de acordo com o Teste *t* ($p < 0,05$), letras maiúsculas para comparação entre genótipos (entre colunas) e minúsculas para comparação entre temperaturas (na mesma coluna). AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Lesão. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade.

11.3 Efeito da duração do período de molhamento foliar na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento

A análise estatística apontou efeito significativo entre período de molhamento, genótipos e a interação entre estes fatores, para AACPS (Tabela 13). Houve diferença estatística para entre os períodos de molhamento e os genótipos, para a variável AACPL. Já para o período de incubação, a análise apontou diferença estatística apenas para período de molhamento. Os dados do período latente não estão apresentados, pois o cálculo desta variável considerava 50% das plantas da parcela com esporulação, e este número de plantas com sinais de esporulação foi inferior à porcentagem mencionada.

Tabela 13. Análise de variância referente progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Plantas submetidas a condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), fotoperíodo de 12 horas nos períodos de duas; seis; 16; 24 e 48 horas de molhamento (PM). Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio ^x		
		AACPS	AACPL	Período de Incubação
Bloco	2	0,02	0,00	0,02
PM	4	0,26*	0,03*	0,38*
GE	1	0,62*	0,03*	0,04
PM*GE	2	0,17*	0,00	0,19
Erro	18	0,05	0,00	0,09
CV (%)		17,57	7,11	11,63

^xDados transformados por $\sqrt{x + 1}$. GE.: Genótipo. CV.: Coeficiente de variação. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão.

Nas variáveis AACPS e AACPL, o teste *t* apontou que os valores médios da ‘Perinha Água Branca’ foram estatisticamente maiores, quando comparados com o ‘Mascot’. Ainda na comparação dos dados médios, o melhor ajuste da curva foi obtido com o modelo quadrático, o qual foi estatisticamente significativo, para as variáveis AACPS ($R^2 = 0,97$), AACPL ($R^2 = 0,57$) e PI ($R^2 = 0,88$) (Tabela 14). De acordo com a derivação do modelo matemático da AACPS e da AACPL ($y = -0,0044x^2 + 0,2351x - 0,6435$), estimou-se que o ponto de máxima ocorre com 26,71 horas para as duas variáveis. E para o período de incubação, segundo o modelo $y = -0,0056x^2 + 0,3213x - 8,6934$; o ponto de máxima foi estimado quando fornecido 28,68 horas. O requerimento de uma exposição maior à umidade também foi relatada por Basallote-Ureba *et al.* (1999), onde *S. vesicarium* necessitava de períodos mais longos que 24 horas para o desenvolvimento dos sintomas em alho e cebola.

Quanto ao desdobramento dos genótipos em cada período de molhamento, as plantas de ‘Perinha Água Branca’, mantidas com 24 horas de molhamento, apresentaram maiores AACPS e AACPL, quando comparadas ao ‘Mascot’. Nos demais períodos de molhamento não houve diferença estatística entre os genótipos. Desta forma, preconiza-se o uso de 24 horas de molhamento (câmara úmida) em ensaios para discriminar estes dois genótipos.

O modelo de regressão quadrático foi o que melhor se ajustou os dados da AACPS ($p = 0,000$ e $R^2 = 0,93$); da AACPL ($p = 0,002$ e $R^2 = 0,77$) e do PI ($p = 0,001$ e $R^2 = 0,93$), para ‘Perinha Água Branca’ (Tabela 14 e Figura 11). O modelo determinado para a AACPS foi $y = -0,0044x^2 + 0,2351x - 0,6435$; com ponto de máxima estimado na condição de 26,71 horas. O máximo valor da AACPL ($y = -0,0007x^2 + 0,0382x - 0,0616$) e do período de incubação ($y = 0,0075x^2 + 0,4273x - 9,2347$) ocorre quando fornecidos os períodos de 27,28 e 28,48 horas de molhamento, respectivamente. ‘Mascot’, nenhuma das regressões testadas, nas três variáveis,

apresentou diferença estatística significativa. As regressões que se mostraram estatisticamente significativas estão expressas na figura 11.

Na figura 11, observa-se que os maiores valores de AACPS pertenciam a cultivar ‘Perinha Água Branca’ e o maior ponto foi observado com 24 horas. O mesmo foi verificado nos dados médios. Dados semelhantes ao encontrado Suheri and Price (2000) que reportaram que a infecção por *S. vesicarium* em cebola aumentou com o acréscimo do período de molhamento para 24 horas, quando comparado a seis e dezoito horas.

O progresso da lesão, expresso pela AACPL, também foi maior na ‘Perinha Água Branca’, com ponto máximo observado no período de 16 horas de molhamento (Figura 11). Contudo, o ponto máximo estimado ocorre em 27,28 horas.

Em relação ao período de incubação, tanto nos dados segundo os genótipos quanto nos dados médios, este decresceu até 24 horas e depois aumentou com 48 horas. De modo geral, os períodos iniciais de molhamento proporcionaram o menor progresso da doença, sendo a infecção, representada pelo período de incubação (figura 15), favorecida por períodos maiores que 16 horas. Da mesma forma, Jakhar *et al.* (1996) relataram que para *S. vesicarium* são necessárias pelo menos 16 horas numa atmosfera saturada de iniciação do desenvolvimento da doença em cebola.

Na figura 11, observa-se que com 48 horas de molhamento há a redução da AACPL e da AACPS, levantando a hipótese que o período mais prolongado de molhamento prejudicaria a infecção do *S. solani* ou até estaria atuando na lavagem do inóculo das folhas. Outro ponto a ser considerado é que períodos prolongados de molhamento não permitam a abertura dos estômatos. Uma vez que é através destas estruturas que ocorre com maior frequência a penetração do *S. solani* nas folhas de tomateiro (BENTES & MATSUOKA, 2005).

De acordo com os resultados obtidos, propõem-se que o período de câmara úmida para proporcionar o molhamento foliar para a infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro, mantidas na temperatura de 25°C diurno e 15°C noturno, é de 24 horas.

Tabela 14. Análise de Regressão referente à infecção em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, pelo isolado SENA302 de *Stemphylium solani*, submetidas aos períodos de dois; seis; 16; 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	AACPL					
		‘Mascot’		Perinha		Média	
		QM	R ²	QM	R ²	QM	R ²
Regressão linear	1	0,00 (<i>p</i> = 0,958)	0,00	0,00 (<i>p</i> = 0,511)	0,03	0,00 (<i>p</i> = 0,615)	0,01
Regressão quadrática	1	0,01 (<i>p</i> = 0,201)	0,23	0,07 (<i>p</i> = 0,002)	0,77	0,07 (<i>p</i> = 0,003)	0,57
Desvio	1	0,00 (<i>p</i> = 0,000)		0,00 (<i>p</i> = 0,000)		0,00 (<i>p</i> = 0,00)	
Erro	18	0,01		0,01		0,00	
		AACPS					
Regressão linear	1	0,00 (<i>p</i> = 0,763)	0,03	0,08 (<i>p</i> = 0,214)	0,05	0,06 (<i>p</i> = 0,274)	0,06
Regressão quadrática	1	0,04 (<i>p</i> = 0,370)	0,28	1,38 (<i>p</i> = 0,000)	0,93	0,95 (<i>p</i> = 0,000)	0,97
Desvio	1	0,00 (<i>p</i> = 0,000)		0,00 (<i>p</i> = 0,000)		0,00 (<i>p</i> = 0,000)	
Erro	18	0,05		0,05		0,05	
		Período de Incubação					
Regressão linear	1	0,03 (<i>p</i> = 0,600)	0,23	0,25 (<i>p</i> = 0,124)	0,12	0,27 (<i>p</i> = 0,110)	0,14
Regressão quadrática	1	0,00 (<i>p</i> = 0,994)	0,23	1,59 (<i>p</i> = 0,001)	0,93	1,40 (<i>p</i> = 0,002)	0,88
Desvio	0	0,00 (<i>p</i> = 0,000)		0,00 (<i>p</i> = 0,000)		0,00 (<i>p</i> = 0,000)	
Erro	12	0,09		0,09		0,02	

AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. QM.: Quadrado médio. R²: Coeficiente de determinação.

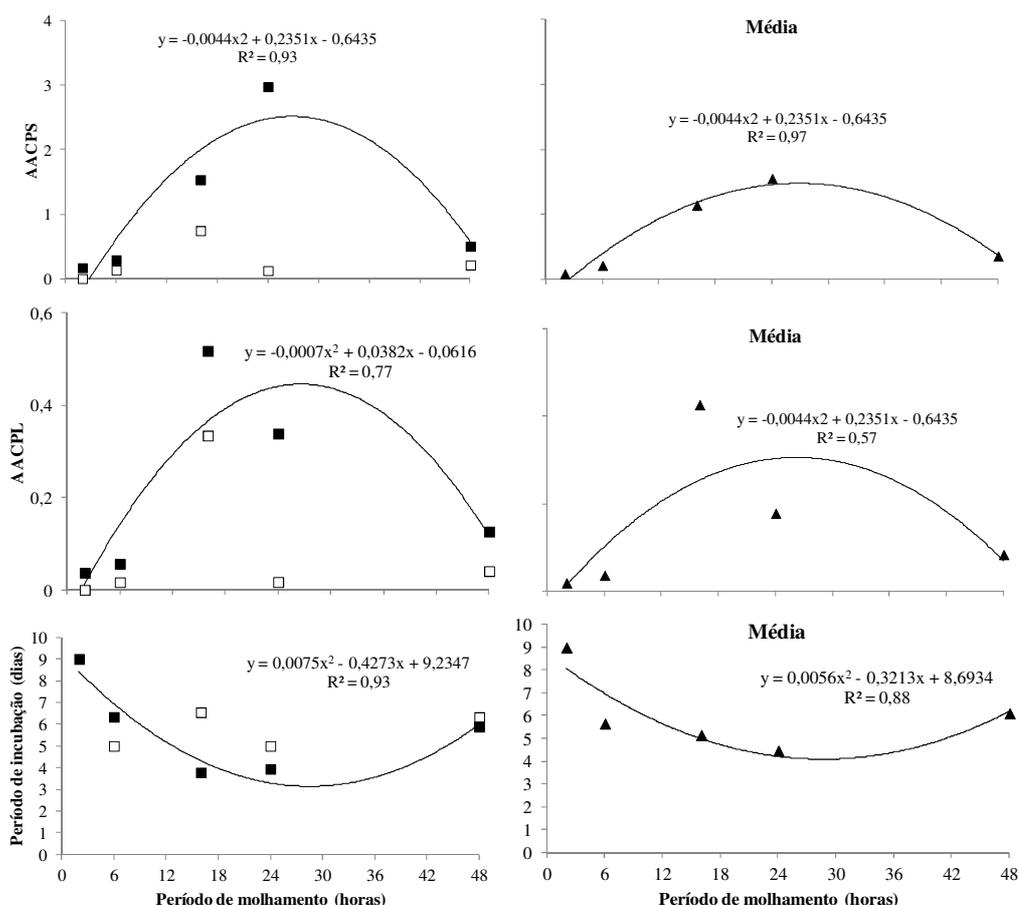


Figura 11. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), ‘Perinha Água Branca’ (■) e ‘Mascot’ (□), inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302 de), e submetidas aos períodos de dois; seis; 16; 24 e 48 horas de molhamento. Seropédica-RJ, Brasil, 2014. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. ▲ para médias dos dois genótipos.

11.4 Efeito da concentração de conídios na infecção de tomateiro por *S. solani*, em câmara de crescimento

No primeiro ensaio, a análise de variância apontou efeito estatístico apenas entre as concentrações de suspensão para na severidade da mancha-de-estenfílio (AACPS) (Tabela 15). Não houve infecção nas testemunhas inoculadas com água, sendo os valores destas desprezados na análise de dados e na representação gráfica.

Quanto ao progresso das lesões, expresso pela AACPL, não houve efeito significativo para todas as fontes de variação testadas (Tabela 15). Já para o período de incubação, observou-se diferença estatística significativa para genótipo e concentração da suspensão. Em relação ao período latente, poucas plantas apresentaram sinais de esporulação, não permitindo o cálculo desta variável. Todavia, segue a análise descritiva da variável: ‘Mascot’ - 8 e 10 dias para 5×10^3 (bloco 1) e 5×10^4 (bloco 3) conídios mL^{-1} , respectivamente; ‘Perinha Água Branca’ - 8 e 10 dias com 5×10^2 conídios mL^{-1} (bloco 1 e 2); 4 e 6 dias para 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL^{-1} , respectivamente, ambos no bloco 1.

Tabela 15. Análise de variância referente progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculadas com 5×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL⁻¹ e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	Quadrado médio ^x		
		AACPS	AACPL	Período de incubação
Bloco	2	0,01	0,04	0,17
Genótipo	1	0,11	0,02	0,33*
Concentração	3	0,16*	0,15	0,26*
Genótipo* Concentração	3	0,12	0,10	0,14
Erro	14	0,05	0,06	0,04
CV (%)		16,62	19,39	10,02

^xDados transformados por $\sqrt{x + 1}$. CV.: Coeficiente de variação. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão.

O modelo quadrático foi o selecionado para a AACPS com os valores médios dos dois genótipos ($p = 0,013$ e $R^2 = 0,79$) e para a ‘Perinha Água Branca’ ($p = 0,008$ e $R^2 = 0,99$), expressos respectivamente, pelas seguintes equações: $y = 0,6575x^2 - 4,79x + 9,109$ e $y = 1,0181x^2 - 7,7248x + 15,042$ (Tabela 16 e Figura 12). Por meio da derivação destas duas equações, os maiores da AACPS ocorrem quando as plantas de tomateiro são inoculadas com 9100 e 9475 conídios mL⁻¹, para a média dos dois genótipos e para ‘Perinha Água Branca’. Quanto ao ‘Mascot’, os modelos testados não foram significativos.

O modelo quadrático foi estatisticamente significativo para AACPL, tanto na média dos dois genótipos ($p = 0,024$; $R^2 = 0,90$ e $y = 0,6859x^2 - 4,9464x + 9,2067$), como para ‘Perinha Água Branca’ ($p = 0,027$; $R^2 = 0,91$ e $y = 1,0181x^2 - 7,7248x + 15,04$) (Tabela 16 e Figura 12). Os máximos valores de AACPL são atingidos quando utilizada a suspensão com 9025 e 9475 conídios mL⁻¹, para média dos dois genótipos e para ‘Perinha Água Branca’, respectivamente.

O período de incubação foi maior no ‘Mascot’, quando comparado ao ‘Perinha Água Branca’ e entre as regressões testadas, a quadrática foi estatisticamente significativa ($p = 0,006$; $R^2 = 1,00$ e $y = 2x^2 - 15,796x + 34,064$) (Tabela 14 e Figura 12). Na média dos dois genótipos, tanto o modelo linear ($p = 0,034$ e $R^2 = 0,27$), como o quadrático ($p = 0,006$ e $R^2 = 0,79$) foram significativos, expressos pelas equações: $y = -0,6959x + 6,0846$ e $y = 1,3159x^2 - 10,348x + 23,089$. Os menores períodos de incubação são obtidos, quando utilizadas as concentrações de 9872, 9325 e 9825 conídios mL⁻¹, para ‘Mascot’, ‘Perinha Água Branca’ e a média dos dois genótipos.

Observa-se que as condições onde ocorrem os pontos de máxima para AACPS, AACPL e o período latente são próximos da concentração 1×10^4 conídios mL⁻¹, sendo esta utilizada como padrão em alguns trabalhos (REIS & BOITEUX, 2006; REIS *et al.*, 2006; DOMINGUES, 2012). Por outro lado, autores como Mehta & Arias (2001), adotam concentrações inferiores (10^3 conídios mL⁻¹) a mencionada. Esta situação também pode estar relacionada com a dificuldade na produção de inóculo. Aliado a isto, há a dificuldade de esporulação abundante *in vitro* de *S. solani* (NAMETAKA & TOKESHI, 1967; WELLS *et al.*, 1971; DOMINGUES, 2012).

Tabela 16. Análise de regressão referente progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculadas com 5×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL^{-1} e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	AACPS					
		'Mascot'		Perinha		Média	
		QM	R ²	QM	R ²	QM	R ²
Regressão linear	1	0,07 ($p = 0,249$)	0,17	0,02 ($p = 0,556$)	0,04	0,01 ($p = 0,678$)	0,02
Regressão quadrática	1	0,04 ($p = 0,359$)	0,29	0,44 ($p = 0,008$)	0,99	0,37 ($p = 0,013$)	0,79
Desvio	1	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
	14						
		AACPL					
Regressão linear	1	0,06 ($p = 0,341$)	0,16	0,00 ($p = 0,931$)	0,01	0,02 ($p = 0,536$)	0,05
Regressão quadrática	1	0,07 ($p = 0,290$)	0,36	0,37 ($p = 0,027$)	0,91	0,38 ($p = 0,024$)	0,90
Desvio	1	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
Erro	14	0,06		0,06		0,06	
		Período de Incubação					
Regressão linear	1	0,17 ($p = 0,077$)	0,25	0,04 ($p = 0,380$)	0,09	0,26 ($p = 0,034$)	0,27
Regressão quadrática	1	0,50 ($p = 0,006$)	1,00	0,02 ($p = 0,510$)	0,14	0,50 ($p = 0,006$)	0,79
Desvio	1	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
Erro	14	0,04		0,04		0,04	

AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. QM.: Quadrado médio. R²: Coeficiente de determinação.

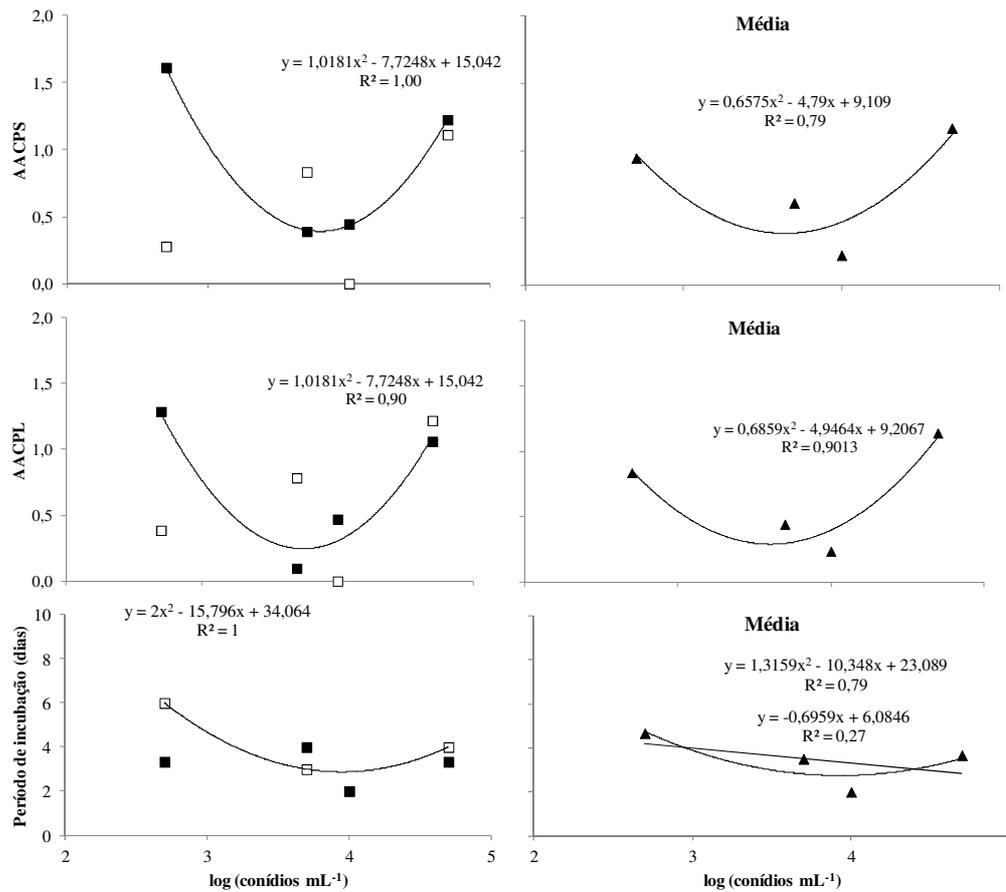


Figura 12. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar ‘Perinha Água Branca’ (□) e ‘Mascot’ (■), inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 5×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 5×10^4 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. ▲ para médias dos dois genótipos.

No segundo ensaio foram testados o efeito das concentrações 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} e dos genótipos ‘Mascot’ e ‘Perinha Água Branca’, os quais não apresentaram diferença estatística quanto a AACPS (Tabela 17). Novamente, não houve infecção nas testemunhas inoculadas com água, os valores destas foram desprezados na análise de dados e na representação gráfica.

Os genótipos apresentaram respostas distintas na AACPL e houve interação entre os fatores no período de incubação (Tabela 17). Não houve esporulação nas lesões em plantas de ‘Mascot’, e na ‘Perinha Água Branca’ o período latente foi de 10; 7; 4 e 4,7 dias para as concentrações 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} , respectivamente.

Nenhuma das regressões testadas para AACPS foram significativas (Tabela 18). Já para a AACPL, na ‘Perinha Água Branca’, que se mostrou mais suscetível a doença apresentando maiores valores que o ‘Mascot’, o modelo linear foi estatisticamente significativo ($p = 0,015$ e $R^2 = 0,88$), expresso pela equação $y = 2,3721x - 5,0896$ (Figura 13). Também foi na ‘Perinha Água Branca’ que a regressão quadrática ($y = -2,572x^2 + 20,837x - 37,392$) foi significativa ($p = 0,001$ e $R^2 = 0,95$). Segundo o modelo, o maior período de incubação é obtido na concentração de 11239 conídios mL^{-1} . O período de incubação foi maior em plantas de ‘Perinha Água Branca’ inoculadas com 1×10^4 conídios mL^{-1} , quando comparado ao ‘Mascot’.

De modo geral, plantas inoculadas com 1×10^4 conídios mL^{-1} apresentaram maior desenvolvimento de doença. Discordando deste resultado, Jakhar *et al.* (1996), ao testarem diferentes concentrações (1×10^2 ; 5×10^2 ; 1×10^3 ; 2×10^3 ; 5×10^3 e 1×10^4 conídios mL^{-1}) de suspensão, obtiveram aumento dos sintomas de *S. vesicarium* em cebola quando utilizadas concentrações menores (1×10^2 a 5×10^3 conídios mL^{-1}), em suspensões maiores houve decréscimo da doença.

De acordo com os resultados obtidos tanto no primeiro, como no segundo ensaio, suspensões próximas à concentração de 1×10^4 conídios mL^{-1} são as mais favoráveis ao desenvolvimento da mancha-de-estenfilio em tomateiro. E esta concentração é recomendada para ensaios com plantas de tomateiro inoculadas com *S. solani*.

Tabela 17. Análise de variância referente progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculadas com 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	Quadrado médio ^x		
		AACPS	AACPL	Período de incubação
Bloco		0,33	0,91	0,00
Genótipo		0,46	2,67*	0,07
Concentração		0,07	0,36	0,03
Genótipo* Concentração		0,29	0,65	0,34*
Erro		0,12	0,25	0,05
CV (%)		20,77	24,92	11,50

^xDados transformados por $\sqrt{x + 1}$. CV.: Coeficiente de variação. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão.

Tabela 18. Análise de regressão referente progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculadas com 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} e mantidas na condição de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno), com fotoperíodo de 12 horas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	AACPS					
		'Mascot'		Perinha		Média	
		QM	R ²	QM	R ²	QM	R ²
Regressão linear	1	0,01 ($p = 0,806$)	0,03	0,52 ($p = 0,054$)	0,67	0,20 ($p = 0,212$)	0,97
Regressão quadrática	1	0,22 ($p = 0,196$)	0,77	0,24 ($p = 0,176$)	0,97	0,00 ($p = 0,963$)	0,97
Desvio	1	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
	14	0,12		0,12		0,12	
		AACPL					
Regressão linear	1	0,00 ($p = 0,983$)	0,00	1,92 ($p = 0,015$)	0,88	0,97 ($p = 0,069$)	0,91
Regressão quadrática	1	0,78 ($p = 0,099$)	0,89	0,22 ($p = 0,365$)	0,98	0,09 ($p = 0,565$)	0,99
Desvio	1	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
Erro	14	0,25		0,25		0,25	
		Período de Incubação					
Regressão linear	1	0,01 ($p = 0,687$)	0,03	0,00 ($p = 0,837$)	0,27	0,00 ($p = 0,889$)	0,01
Regressão quadrática	1	0,21 ($p = 0,066$)	0,83	0,82 ($p = 0,001$)	0,95	0,10 ($p = 0,189$)	0,99
Desvio	1	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
Erro	14	0,05		0,05		0,05	

AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. QM.: Quadrado médio. R²: Coeficiente de determinação.

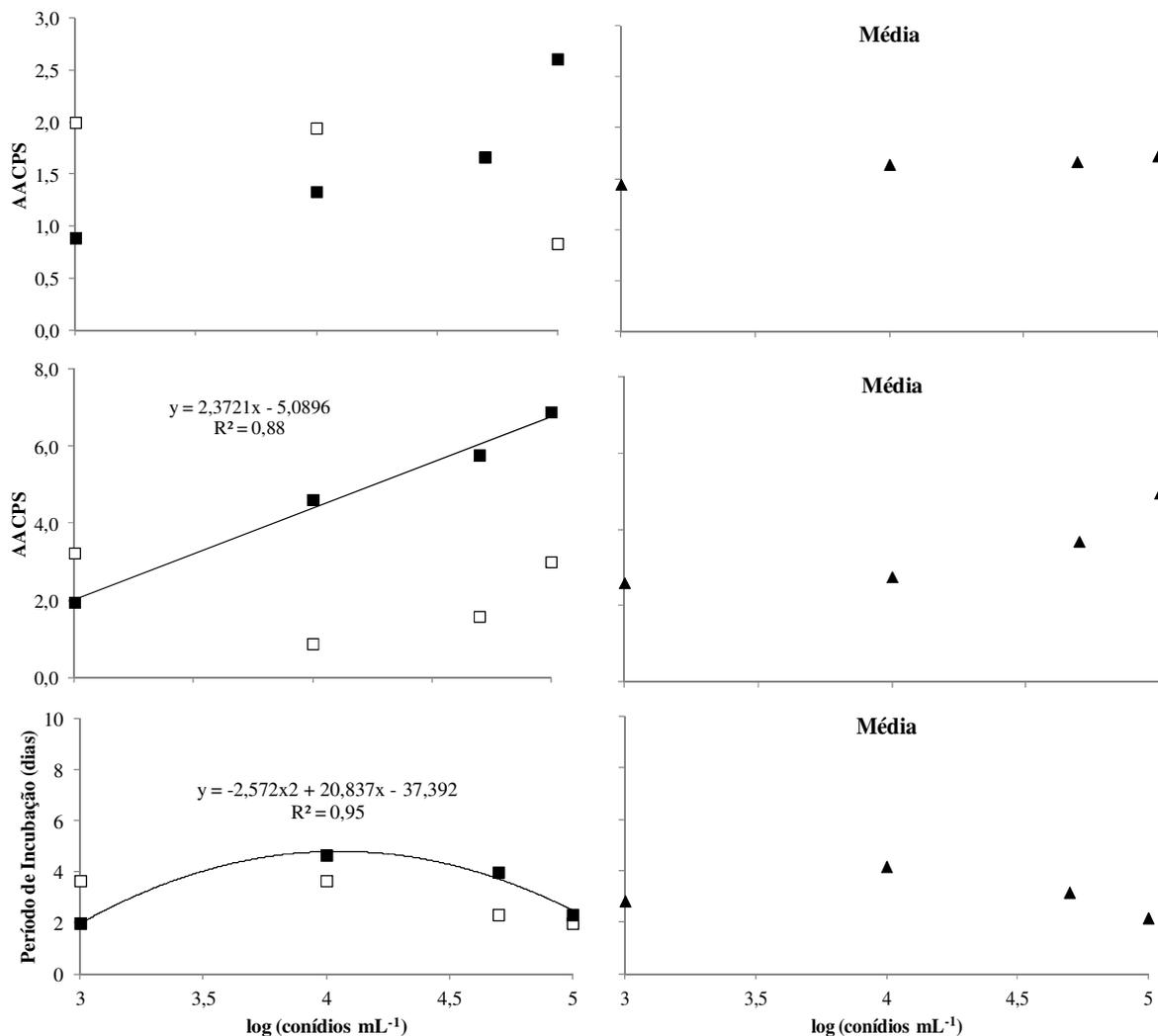


Figura 13. Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar ‘Perinha Água Branca’ (□) e ‘Mascot’ (■), inoculadas com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 1×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014. AACPS.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Severidade. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da lesão. ▲ para médias dos dois genótipos.

11.5 Efeito da concentração de conídios na infecção em frutos de tomateiro, em câmara de crescimento

Análise de variância apontou efeito significativo de fermento, da concentração de inóculo e da interação entre estes fatores sobre a infecção de frutos (Tabela 19). Não houve infecção nos frutos inoculados com água e seus dados foram desprezados na análise de dados e na representação gráfica.

A incidência da mancha-de-estenfílio nos frutos foi maior na presença de ferimentos, em quaisquer das concentrações estudadas. O estabelecimento e desenvolvimento mais rápido de doenças em frutos na presença de ferimentos também foi relatada em outros trabalhos, a citar, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.) (DENARDI *et al.*, 2003) e *Botryosphaeria dothidea* (SANTOS *et al.*, 2008), ambos em macieira (*Malus domestica*). Em alguns casos, a doença só ocorre devido a presença de ferimentos, como a infecção em

meloeiro (*Cucumis melo*) por *Myrothecium roridum* (SENHOR *et al.*, 2008) e *Fusarium semitectum* (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Tabela 19. Análise de variância de frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Perinha Água Branca’ inoculados com diferentes concentrações de suspensão de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	QM
		AACPD
Ferimento	1	2813671,87*
Concentração	2	280984,37*
Ferimento*Concentração	2	184545,62*
Erro	24	52062,50
CV (%)		23,08

*5% de probabilidade de erro. CV = Coeficiente de variação.

A regressão linear, com os valores médios dos frutos feridos e não feridos, apresentou-se estatisticamente significativa, com $p = 0,006$, $R^2 = 0,83$ e a seguinte equação $y = 153,13x + 376,25$ (Tabela 20). Ou seja, houve aumento nas infecções em frutos com a utilização de suspensões mais concentradas. O efeito crescente de infecções frente ao maior número de conídios também foi relatado por Oliveira *et al.* (2013) com *F. semitectum* inoculado nas concentrações de 1×10^1 ; 1×10^2 ; 1×10^3 ; 1×10^4 ; 1×10^5 e 10^6 conídios mL^{-1} em frutos de meloeiro.

Apesar do número de infecções maior em frutos feridos, nenhuma das regressões testadas foi significativa. O que significa que, independente das concentrações utilizadas nos ensaios, o *S. solani* é capaz de infectar os frutos de tomates devido aos ferimentos.

Para frutos não feridos, as regressões linear e a quadrática foram significantes, com $p = 0,004$ e $R^2 = 0,61$ ($y = 227,5x - 227,5$) e $p = 0,019$ e $R^2 = 1,00$ ($y = 315x^2 - 2292,5x + 4602,5$), respectivamente (Tabela 20 e Figura 14). O número máximo de frutos infectados é atingido quando inoculados com 4346,05 conídios mL^{-1} (próximo a 5×10^4 conídios mL^{-1} , concentração não utilizada neste ensaio). Neste caso, para maior número de frutos não-feridos infectados é necessário a inoculação com suspensões mais concentradas.

De acordo o resultado obtido neste ensaio comprova-se que o fungo *S. solani* é capaz de infectar frutos de tomateiro, uma vez que, houve a colonização dos tecidos (Figura 15B e D). E por meio do isolamento dos tecidos pode-se comprovar que as lesões eram oriundas do patógeno em estudo (Figura 15E e F). E pode-se inferir que em condições de campo, quando o inóculo do *S. solani* está presente na área (independente da quantidade), frutos feridos pela ação de vento; granizo; insetos; entre outros, terão as lesões da doença. E ainda, se pressão de inoculo na área for alto, mesmo sem ferimentos nos frutos, ocorrerá a infecção nestes órgãos.

Tabela 20. Análise de regressão referente progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) ‘Perinha Água Branca’, inoculados com 1×10^3 , 1×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} . Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de variação	GL	Presença de ferimento		Ausência de ferimento		Média	
		QM	R ²	QM	R ²	QM	R ²
Regressão linear	1	62015,62 ($p = 0,286$)	0,75	517562,50 ($p = 0,004$)	0,61	46895,31 ($p = 0,006$)	0,83
Regressão quadrática	1	20671,87 ($p = 0,535$)	1,00	330750,00 ($p = 0,019$)	1,00	93023,44 ($p = 0,194$)	1,00
Desvio	0	0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)		0,00 ($p = 0,000$)	
Erro	24	52062,50		52062,50		52062,50	

QM.: Quadrado médio. R²: Coeficiente de determinação.

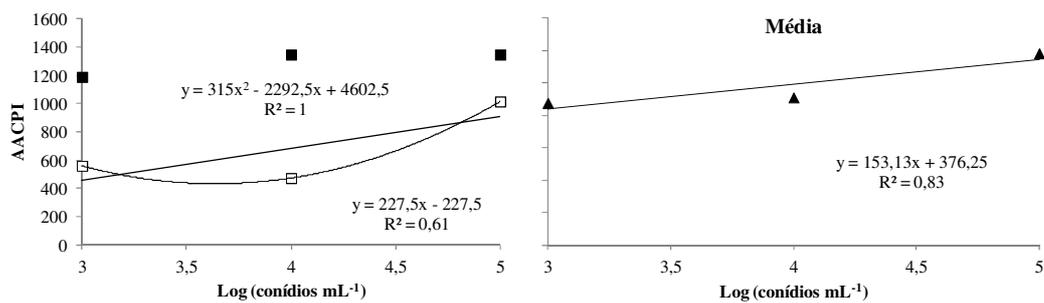


Figura 14. Frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar 'Perinha Água Branca', inoculados com *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 1×10^3 , 1×10^4 e 1×10^5 conídios mL⁻¹. Seropédica-RJ, Brasil, 2014. AACPI: Área Abaixo da Curva de Progresso da Incidência. Presença (■) e ausência (□) de ferimentos e ▲ para médias dos dois.

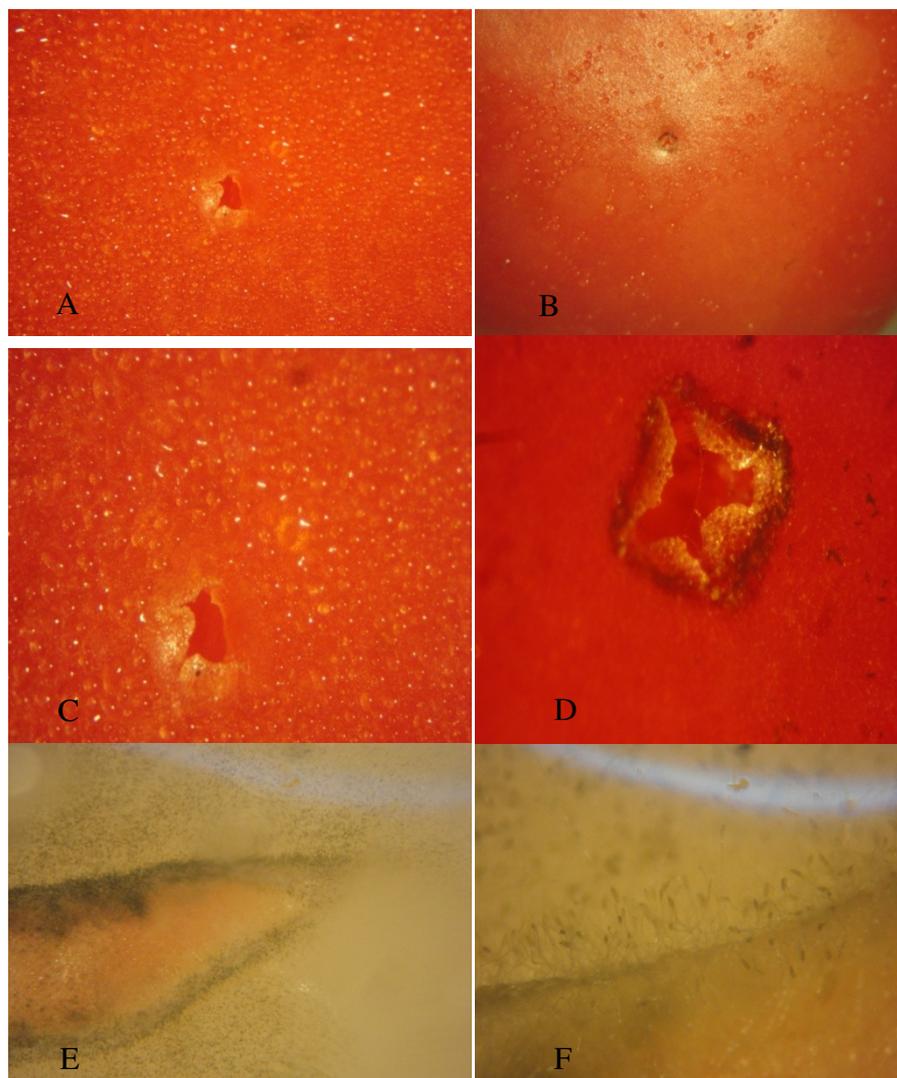


Figura 15. Ensaio com inoculação de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da cultivar 'Perinha Água Branca'. Fruto com ferimento inoculado com água (A) e visão aproximada (C). Fruto com ferimento e inoculado com suspensão do tecido lesionado (E), com esporulação (F). Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

11.6 Efeito da idade da planta e da folha na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro

No primeiro ensaio, não foi possível avaliar as plantas com 20 folhas verdadeiras, devido ao ataque de oídio (*Oidium* sp.) e temperaturas altas, os quais tornaram as plantas debilitadas, resultando em alta desfolha.

A análise estatística apontou efeito significativo para classe e sua interação com o genótipo nas variáveis AACPL e AACPP (Tabela 21). Houve efeito estatístico significativo apenas para classe no período de incubação. O período latente não pode ser calculado e o mesmo foi retirado da análise estatística.

Tabela 21. Análise de variância do progresso mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’, inoculadas com quatro, oito e 16 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio ^x		
		AACPL	AACPP	Período latente
Genótipo	1	1,40	0,03	0,00
Estádio	2	23,05*	0,43*	0,24*
Genótipo *Estádio	2	18,89*	0,25*	0,03
Erro	42	1,37	0,01	0,04
CV (%)		40,30	10,80	8,65

^xOpção de transformação: $\sqrt{x+1}$. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Lesão. AACPP.: Área Abaixo da Curva de Progresso Proporcional da lesão. CV.: Coeficiente de variação.

Considerando os dados médios, as variáveis AACPL, AACPP e o período de incubação não diferiram estatisticamente segundo os genótipos avaliados (Tabela 22). Os estádios com oito e 16 folhas apresentaram menor AACPL e AACPP, quando comparadas com as plantas que possuíam quatro folhas. O período de incubação foi estatisticamente diferente e menor em plantas com quatro folhas, quando comparada com plantas com 16 folhas.

Na comparação entre genótipos, no estádio com quatro folhas, a AACPL e a AACPP foi maior no ‘Mascot’ e não houve diferença entre os genótipos no período de incubação (Tabela 22). No estádio com oito e 16 folhas observou-se diferença estatística apenas para AACPL, sendo maior na ‘Perinha Água Branca’.

A mancha-de-estenfílio, representada pela AACPL e AACPP, foi maior em plantas com quatro folhas do que nos demais estádios, para o ‘Mascot’ (Tabela 22). O período de incubação, no ‘Mascot’, foi menor no estádio com quatro folhas, quando comparada com o de 16 folhas. Não houve diferença estatística significativa entre os estádios em todas as variáveis avaliadas em plantas de ‘Perinha Água Branca’.

O desenvolvimento da mancha-de-estenfílio foi estudado em cada folha do tomateiro, para isto, analisou-se cada estádio separadamente. Em plantas com quatro folhas, a análise de variância apontou efeito estatístico significativo para genótipo e folha (idade) na AACPL; para genótipo, folha e a interação destes dois fatores para AACPP e para folha e sua interação com o genótipo para período de incubação (Tabela 23). O período de incubação foi calculado somente em plantas com quatro folhas, sendo descartada a quarta folha na análise, devido à ausência de infecções.

Tabela 22. Progresso da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’, inoculados com 4, 8 e 16 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014^x.

Classe	‘Perinha Água Branca’						‘Mascot’						Média					
	AACPL		AACPP		PI		AACPL		AACPP		PI		AACPL	AACPP	PI			
4 Folhas	10,17	B a	0,40	B a	4,38	A a	31,17	A a	1,34	A a	4,43	A b	20,67	a	0,87	a	4,40	b
8 Folhas	8,28	A a	0,27	A a	5,57	A a	1,12	B b	0,03	A b	5,00	A ab	4,70	b	0,15	b	5,28	ab
16 Folhas	10,75	A a	0,20	A a	5,35	A a	1,86	B b	0,03	A b	5,75	A a	6,31	b	0,12	b	5,55	a
Média	9,73	A	0,29	A	5,10	A	11,38	A	0,47	A	5,06	A						

^xMédias seguidas de letras semelhantes não diferem-se entre si, pelo teste de Tukey para as classes e teste *t* para os genótipos ($p < 0,05$). Letras minúsculas referem-se a comparação entre classe (na mesma coluna) e maiúsculas referem-se a comparação entre genótipos (entre colunas). Área Abaixo da Curva de Progresso da Lesão (dado obtido pela multiplicação do número de lesões e seu diâmetro médio). AACPP.: Área Abaixo da Curva de Progresso Proporcional da lesão (dado obtido pela divisão do valor obtido pela multiplicação do número de lesões pelo seu diâmetro médio pelo valor médio de duas medidas perpendiculares da folha). PI.: Período de incubação.

Tabela 23. Análise de variância do progresso mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’, inoculados com quatro, oito e 16 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Fonte de variação	Estádio com 4 folhas verdadeiras				Estádio com 8 folhas verdadeiras			Estádio com 16 folhas verdadeiras		
	GL	Quadrado médio ^x			GL	Quadrado médio ^x		GL	Quadrado médio ^x	
		AACPL	AACPP	PI		AACPL	AACPP		AACPL	AACPP
Genótipo	1	62,99*	1,32*	0,08	1	12,90	0,18	1	64,31*	0,29*
Folha	2	50,67*	1,09*	0,31*	7	1,51	0,02	15	7,15*	0,03
Genótipo*folha	2	16,47	0,33*	0,29*	7	2,59	0,04	15	3,76	0,02
Erro	42	6,15	0,10	0,04	112	3,60	0,05	224	2,54	0,02
CV (%)		71,16	25,45	8,65		127,07	21,80		92,72	13,28

^xOpção de transformação: $\sqrt{x+1}$. AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Lesão. AACPP.: Área Abaixo da Curva de Progresso Proporcional da lesão. PI.: período de incubação. CV.: Coeficiente de variação.

Em plantas com oito folhas, não houve diferença estatística significativa para todas as variáveis avaliadas (Tabela 23). Em plantas com 16 folhas, a AACPL diferiu de acordo com os genótipos e as folhas e para a AACPP houve efeito significativo apenas para genótipos.

O progresso da mancha-de-estenfílio, em plantas com quatro folhas, foi maior nas primeiras folhas emitidas. A média da AACPL nos dois genótipos foi maior na primeira folha emitida quando comparada com a terceira e quarta (Tabela 24). A AACPP foi maior na primeira e segunda folha emitida, do que na terceira e quarta. Os sintomas da doença apareceram mais rapidamente (período de incubação) na primeira e segunda folha, quando comparadas com a terceira folha.

A AACPL e a AACPP na folha 1 e 2 foram maiores no ‘Mascot’, quando comparados com a ‘Perinha Água Branca’. Não houve diferença entre os genótipos na folha 3 e 4 (para AACPL e AACPP) e na folha 1 e 3 para o período de incubação. Na segunda folha emitida, o período de incubação foi maior na ‘Perinha Água Branca’. Os resultados apresentados, maior progresso da mancha-de-estenfílio no ‘Mascot’, discordam de dados já constatados anteriormente neste trabalho e também dos relatos na literatura (DOMINGUES, 2012).

Não houve diferença estatística entre as folhas para AACPL, AACPP e PI para de ‘Perinha Água Branca’ com quatro folhas (Tabela 24). As folhas 1 e 2, do ‘Mascot’, apresentaram maior AACPL do que na folha 4, e maior AACPP do que as folhas 3 e 4. Os menores períodos de incubação foram constatados nas folhas 1 e 2.

A única diferença estatística constatada na classe de plantas com oito folhas foi que a AACPP maior na terceira folha da ‘Perinha Água Branca’, quando comparada ao ‘Mascot’ (Tabela 22).

A AACPP, média dos dois genótipos, não diferiu estatisticamente entre as diferentes folhas emitidas do estádio 16 Fl (Tabela 24). As folhas 1, 2, 4, 6, 15 e 16 apresentaram menor AACPL que a folha 10.

Na comparação entre genótipos, a AACPL das folhas 3, 9, 10, 11 e 12 e a AACPP das folhas 3 e 12 foram maiores na Perinha Água Branca, que no ‘Mascot’ (Tabela 24). Não houve diferença entre folhas do ‘Mascot’, nas duas variáveis avaliadas. Resultado semelhante ao observado para AACPP da ‘Perinha Água Branca’. A AACPL desta cultivar foi menor nas folhas 1, 2, 6, 7, 15 e 10, quando comparadas com a folha 10.

Durante o ensaio foram constatadas temperaturas máximas próximas ou até mesmo acima de 40°C (Figura 16). Conforme o observado no primeiro capítulo, temperaturas extremas prejudicam a germinação dos conídios de *S. solani* e quando acima de 35°C inibem o crescimento micelial. Lembrando que temperaturas superiores a 34°C causam distúrbios respiratórios no tomateiro (SEDIYAMA *et al.*, 2003). Aliada a esta situação, foram registradas umidades relativas mínimas próximas a 20%, o que além de prejudicar o desenvolvimento da doença, podem afetar negativamente o hospedeiro.

A condição de alta temperatura na casa-de-vegetação debilitou o híbrido ‘Mascot’, podendo ter interferido na sua suscetibilidade. Além das plantas serem submetidas a diferentes condições ambientais, o que pode ter comprometido ou favorecido o desenvolvimento da mancha-de-estenfílio em determinado estádio ou genótipo. Deste modo, preconiza-se a instalação de ensaios em condições controladas, quando houver temperaturas muito elevadas, e plantio escalonado do tomateiro. Assim, no segundo ensaio, as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação climatizada com temperatura regulada para 28°C e todos os estádios (plantas com determinado número de folhas) foram avaliadas simultaneamente em um mesmo período.

Tabela 24. Progresso da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), ‘Perinha Água Branca’ e ‘Mascot’, inoculados com 4, 8 e 16 folhas verdadeiras (Fl). Seropédica-RJ, Brasil, 2014^x

Classe	Fl	‘Perinha Água Branca’				‘Mascot’				Média		
		Idade (dias)	AACPL	AACPP	PI	Idade (dias)	AACPL	AACPP	PI	AACPL	AACPP	PI
4 Fl	1	14,00	17,79 B a	0,80 B a	4,50 A a	20,25	57,52 A a	2,77 A a	4,43 A b	37,65 a	1,78 a	4,46 b
	2	12,00	15,56 B a	0,56 B a	5,00 A a	17,25	49,83 A a	2,09 A a	3,33 B b	32,65 ab	1,33 a	4,16 b
	3	7,25	5,80 A a	0,04 A a	5,00 A a	7,75	17,32 A ab	0,52 A b	5,80 A a	9,42 bc	0,28 b	5,40 a
	4	2,12	1,52 A a	0,18 A a	--	2,62	0,00 A b	0,00 A b	--	2,90 c	0,09 b	--
8 Fl	1	26,00	10,06 A a	0,41 A a	--	34,00	0,00 A a	0,00 A a	--	5,03 a	0,21 a	--
	2	24,00	7,79 A a	0,31 A a	--	31,75	0,00 A a	0,00 A a	--	3,89 a	0,15 a	--
	3	20,00	31,36 A a	1,04 A a	--	26,37	0,76 A a	0,00 B a	--	16,06 a	0,52 a	--
	4	17,00	3,35 A a	0,09 A a	--	17,62	3,28 A a	0,09 A a	--	3,32 a	0,09 a	--
	5	11,62	0,00 A a	0,00 A a	--	12,50	4,89 A a	0,12 A a	--	2,44 a	0,05 a	--
	6	7,87	9,72 A a	0,23 A a	--	8,62	0,00 A a	0,00 A a	--	4,86 a	0,12 a	--
	7	4,87	3,98 A a	0,10 A a	--	5,50	0,00 A a	0,00 A a	--	1,99 a	0,05 a	--
	8	2,00	0,00 A a	0,00 A a	--	2,25	0,00 A a	0,00 A a	--	0,00 a	0,00 a	--
16 Fl	1	63,00	0,00 A b	0,00 A a	--	70,50	0,00 A a	0,00 A a	--	0,00 b	0,00 a	--
	2	61,00	0,00 A b	0,00 A a	--	68,50	0,00 A a	0,00 A a	--	0,00 b	0,22 a	--
	3	56,00	24,58 A ab	0,74 A a	--	57,00	0,00 B a	0,00 B a	--	12,29 ab	0,37 a	--
	4	51,75	3,97 A ab	0,09 A a	--	53,50	0,00 A a	0,00 A a	--	1,99 b	0,05 a	--
	5	46,12	8,24 A ab	0,20 A a	--	49,75	1,07 A a	0,03 A a	--	4,65 ab	0,11 a	--
	6	42,50	2,46 A b	0,07 A a	--	46,25	0,00 A a	0,00 A a	--	1,23 b	0,04 a	--
	7	38,75	3,43 A b	0,09 A a	--	39,37	9,24 A a	0,20 A a	--	6,34 ab	0,14 a	--
	8	34,62	7,17 A ab	0,28 A a	--	36,00	0,00 A a	0,00 A a	--	3,58 ab	0,14 a	--
	9	30,75	20,21 A ab	0,38 A a	--	31,12	4,46 B a	0,09 A a	--	12,34 ab	0,23 a	--
	10	27,62	28,12 A a	0,40 A a	--	28,62	6,03 B a	0,19 A a	--	17,07 a	0,29 a	--
	11	24,25	10,86 A ab	0,21 A a	--	26,25	0,00 B a	0,00 A a	--	5,42 ab	0,10 a	--
	12	20,75	19,61 A ab	0,41 A a	--	21,12	1,17 B a	0,03 B a	--	10,39 ab	0,00 a	--
	13	18,62	4,87 A ab	0,17 A a	--	17,37	0,00 A a	0,00 A a	--	2,44 ab	0,08 a	--
	14	13,75	7,01 A ab	0,20 A a	--	14,00	0,00 A a	0,00 A a	--	3,50 ab	0,10 a	--
	15	11,87	0,00 A b	0,00 A a	--	8,75	0,00 A a	0,00 A a	--	0,00 b	0,00 a	--
	16	6,25	0,00 A b	0,00 A a	--	3,00	0,00 A a	0,00 A a	--	0,00 b	0,00 a	--

^xMédias seguidas de letras semelhantes não diferem-se entre si, pelo teste de Tukey para as classes e teste *t* para os genótipos ($p < 0,05$). Letras minúsculas referem-se a comparação entre classe (na mesma coluna) e maiúsculas referem-se a comparação entre genótipos (entre colunas). AACPL.: Área Abaixo da Curva de Progresso da Lesão. AACPP.: Área Abaixo da Curva de Progresso Proporcional da lesão. PI.: Período de incubação. – dados ausentes.

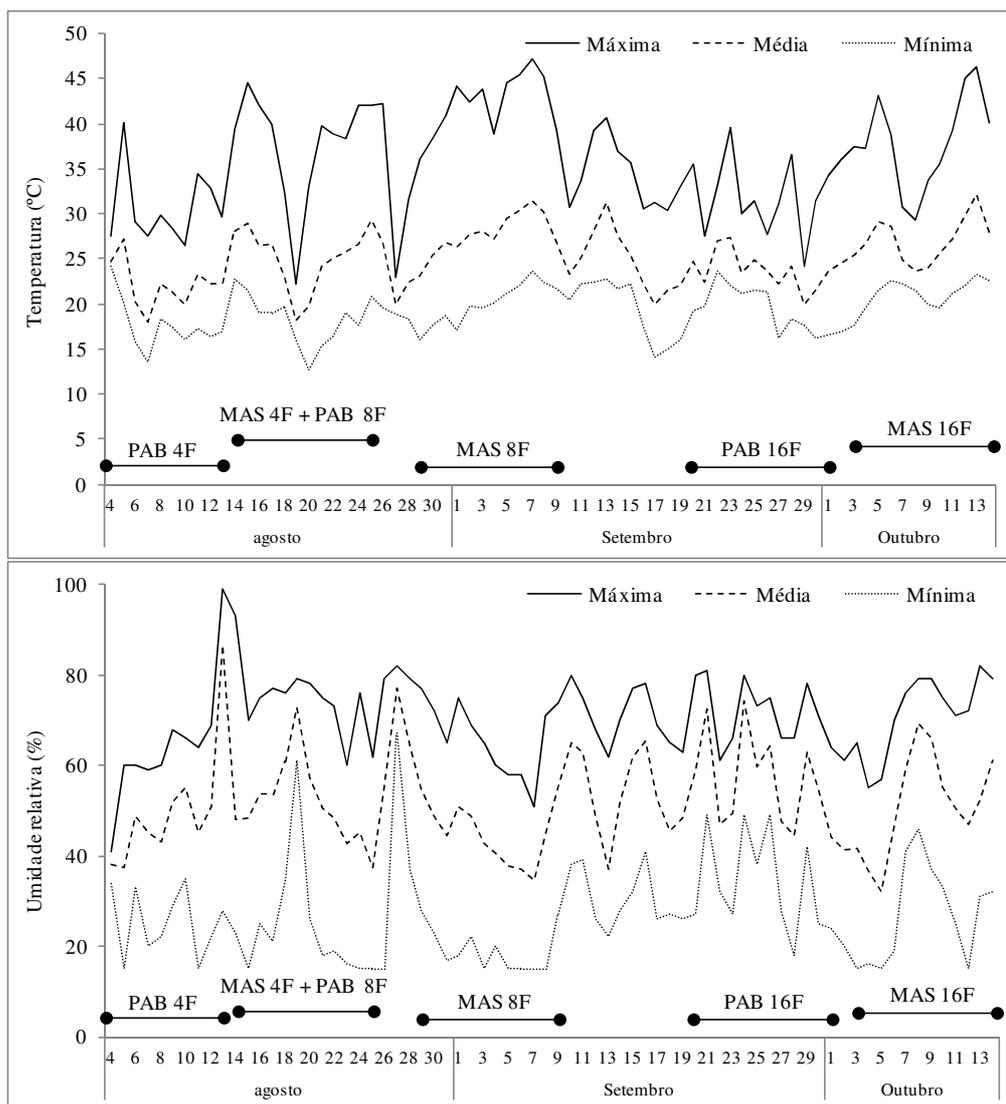


Figura 16. Dados climáticos de temperatura (A) e umidade relativa (B, da casa-de-vegetação, no período de 04 de agosto a 14 de outubro de 2013. Seropédica-RJ. ●—● refere-se ao período de avaliação de casa classe.

No segundo ensaio, a análise de variância considerando os estádios das plantas indicou efeito significativo do genótipo e sua interação com a classe de plantas (Tabela 25).

A AACPD foi maior na cultivar suscetível ‘Perinha Água Branca’, tanto na média entre os genótipos como em cada estádio estudado (Tabela 26). Na média, não houve diferença estatística entre os estádios fenológicos e o mesmo foi observado no ‘Mascot’.

Para ‘Perinha Água Branca’, a maior AACPD foi no estádio mais avançado de desenvolvimento (plantas com 19 folhas), quando comparada ao estádio intermediário (14 folhas) (Tabela 26). O que pode indicar que a suscetibilidade à mancha-de-estênfilio em genótipos suscetíveis podem apresentar flutuações. Estes dados estão de acordo com Rotem (1968) e Rotem & Cohen (1966) que relatam que apesar da ocorrência de lesões ocasionais em plantas jovens, a incidência da doença aumenta com a idade da planta e atinge o pico máximo na época da colheita.

A maior severidade em plantas com 19 folhas também pode estar relacionada com área foliar, a qual decresce a partir de determinado ponto do ciclo. Segundo Reis *et al.* (2013), a redução da área foliar do tomateiro ocorre a partir dos 50 dias de transplântio (DAT). Fayad

et al. (2001) verificaram esta resposta aos 93 DAT para o híbrido EF-50 e aos 58 DAT para cv. ‘Santa Clara’. Neste ensaio, as plantas com 19 folhas possuíam 95 dias da semeadura até o início da avaliação.

Tabela 25. Análise de variância da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302), expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da cultivar ‘Perinha Água Branca’ e do híbrido ‘Mascot’, plantas com três, 14 e 19 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio
Genótipo	1	138,72*
Estádio	2	0,28
Genótipo*Estádio	2	0,84*
Erro	113	0,15
CV (%)		14,69

*Opção de transformação: $\sqrt{x+1}$. CV.: Coeficiente de variação.

Tabela 26. Progresso da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da cultivar ‘Perinha Água Branca’ e do híbrido ‘Mascot’, plantas com três, 14 e 19 folhas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Estádio	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença		
	‘Mascot’	‘Perinha Água Branca’	Média
Plantas com três folhas	2,07 B a	13,62 A ab	7,84 a
Plantas com 14 folhas	1,26 B a	11,73 A b	6,75 a
Plantas com 19 folhas	1,24 B a	14,56 A a	7,73 a
	1,53 B	13,25 A	

*Médias seguidas de letras semelhantes não diferem-se entre si, pelo teste de Tukey para as classes e teste *t* para os genótipos ($p < 0,05$). Letras minúsculas referem-se a comparação entre classe (na mesma coluna) e maiúsculas referem-se a comparação entre genótipos (entre colunas).

Na análise de variância, considerando a posição da folha na planta, houve diferença estatística entre genótipo e a idade da folha para plantas com três folhas e efeito significativo do genótipo, folhas e a interação destes dois fatores para plantas com 14 e 19 folhas (Tabela 27).

Analisando os valores médios, nota-se que a severidade da doença foi maior em folhas mais velhas, como as folhas 1 e 2 de plantas com três folhas, as folhas 1, 2 e 3 de plantas com 14 folhas e as folhas 1, 2, 3 e 4 de plantas com 19 folhas (Tabela 28). A maior severidade da mancha-de-estenfílio em folhas baixas (mais velhas) de tomateiro também foi relatada por Domingues (2012). Estes resultados conflitam com os relatos que a infecção é predominante na porção apical, uma vez que a incidência é maior em folhas mais novas (KUROSAWA & MUSSI, 1995).

Nota-se que com o desenvolvimento do tomateiro, o número de folhas com os maiores valores de AACPD (em relação com as demais folhas) aumenta. De acordo com Bashi (1974) citado por Rotem & Bashi (1977), as plantas de tomateiro apresentam respostas distintas à infecção pelo patógeno conforme o estágio fenológico.

As plantas de ‘Perinha Água Branca’ apresentaram maior AACPD, quando comparadas ao ‘Mascot’, em todas as folhas avaliadas, exceto nas seguintes condições: última folha das plantas com 14 folhas e folha 18 e 19 das plantas mais velhas. O que comprova a padrão suscetível da ‘Perinha Água Branca’ a mancha-de-estenfílio, já verificado neste e em outro trabalho (DOMINGUES, 2012). E também, que as condições ambientais do primeiro ensaio, interferiram no estabelecimento do patógeno no hospedeiro e ao estudar o

efeito dos estádios fenológicos na infecção, a avaliação deve ser simultânea em todas as fases (priorizando o plantio escalonado).

De acordo com Domingues *et al.* (dados não publicados), a porção ideal para a avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas adultas de tomateiro é até a sexta folha (contando do ápice para a base), pois esta permite a discriminação dos níveis de suscetibilidade dos genótipos. Transferindo esta informação aos dados deste trabalho, em plantas com 14 e 19 folhas, a doença seria avaliada até a folha 9 e 14, respectivamente, permitindo a discriminação entre os genótipos por não possuírem altas severidades como as folhas mais velhas e poucas lesões com as folhas mais novas. A avaliação de poucas folhas por plantas permitem que mais tratamentos possam ser avaliados e também avaliações mais rápida e isentas de erros decorrentes do cansaço do avaliador.

Tabela 27. Análise de variância da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* – isolado SENA302), expresso pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da cultivar ‘Perinha Água Branca’ e do híbrido ‘Mascot’, em plantas três, 14 e 19 folhas verdadeiras. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Fonte de variação	Estádio com plantas de ^x					
	Três folhas		14 folhas		19 folhas	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Genótipo	1	71,63*	1	322,49*	1	554,38*
Folha	2	16,72*	9	28,10*	12	38,65*
Genótipo*Classe	2	3,40	9	15,86*	12	22,55*
Erro	114	1,12	380	0,12	494	0,18
CV (%)		42,80		14,86		16,92

^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. CV.: Coeficiente de variação. QM.: Quadrado médio.

Tabela 28. Progresso da mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani*) em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) da cultivar ‘Perinha Água Branca’ e do híbrido ‘Mascot’, plantas com três, 14 e 19 folhas expandidas. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Folha	Plantas com quatro folhas				
	‘Mascot’		‘Perinha Água		Média
	Idade	AACPD	Idade	AACPD	AACPD
1	20	3,10 B a	27	19,16 A a	11,13 a
2	18	2,44 B a	22	12,63 A b	7,49 a
3	12	0,68 B a	14	4,90 A c	2,79 b
4	--	--	--	--	--
	Plantas com 14 folhas				
1	--	--	--	--	--
2	--	--	--	--	--
3	--	--	--	--	--
4	--	--	--	--	--
5	61	1,78 B a	77	17,69 A a	9,73 a
6	58	1,89 B a	74	22,58 A a	12,01 a
7	55	1,88 B a	71	22,46 A a	12,23 a
8	52	1,68 B ab	68	22,14 A b	12,07 b
9	49	1,52 B ab	65	15,56 A b	8,54 b
10	47	1,25 B abc	63	9,07 A c	5,16 c
11	45	0,93 B	61	4,53 A d	2,73 d
12	43	0,66 B bcd	59	2,71 A e	1,69 e
13	37	0,46 B cd	84	1,19 A f	0,81 f
14	33	0,28 A d	49	0,22 A g	0,25 f
	Plantas com 19 folhas				
1	--	--	--	--	--
2	--	--	--	--	--
3	--	--	--	--	--
4	--	--	--	--	--
5	--	--	--	--	--
6	--	--	--	--	--
7	90	2,04 B a	94	28,95 A a	15,49 a
8	86	2,06 B a	90	28,66 A a	15,35 a
9	83	1,91 B a	87	27,79 A a	14,85 a
10	81	1,99 B a	85	26,65 A a	14,32 a
11	78	1,69 B ab	82	24,97 A a	13,33 ab
12	75	1,57 B abc	79	20,39 A b	10,98 b
13	73	1,45 B abc	77	14,30 A c	7,87 c
14	69	1,27 B abc	75	8,81 A d	5,04 d
15	67	0,97 B	73	4,98 A e	2,97 e
16	65	0,78 B	71	2,78 A ef	1,78 ef
17	63	0,51 B bcd	67	1,46 A fg	0,99 fg
18	61	0,41 A cd	65	0,67 A g	0,54 g
19	59	0,08 A d	63	0,28 A g	0,18 g

^aIdade em dias da folha no momento da inoculação, considerado a partir da folha expandida com 3 cm. – ausência de dados. Médias seguidas de letras semelhantes não diferem-se entre si, pelo teste de Tukey para as classes e teste *t* para os genótipos ($p < 0,05$). Letras minúsculas referem-se a comparação entre classe (na mesma coluna) e maiúsculas referem-se a comparação entre genótipos (entre colunas).

12. CONCLUSÕES

Efeito de genótipo

1. Os genótipos 'Perinha Água Branca' e 'Mascot' podem ser utilizadas em ensaios com mancha-de-estenfílio, como padrão suscetível e resistente, respectivamente.

Efeito da temperatura na infecção do *S. solani* em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento

1. As condições favoráveis ao desenvolvimento da mancha-de-estenfílio em tomateiro são temperaturas alternadas de 25°C (período diurno) e 15°C (período noturno).

Efeito da duração do período de molhamento foliar na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro, em câmara de crescimento

1. Os pontos de máxima, para os valores médios, da AACPS e AACPL foram estimados com 26,71 horas para as duas variáveis, e 28,68 horas para o período de incubação.
2. Em plantas de 'Perinha Água Branca', a maior AACPS é estimada na condição de 26,71 horas. O máximo valor da AACPL e do período de incubação ocorre quando fornecidos os períodos de 27,28 e 28,48 horas de molhamento, respectivamente.
3. Para ensaios futuros com plantas de tomateiro mantidas em câmara de crescimento na temperatura de 25°C diurno e 15°C noturno propõem-se o período de 24 horas de molhamento para a infecção do *S. solani*.

Efeito da concentração de conídios na infecção de tomateiro por *S. solani*, em câmara de crescimento

1. No primeiro ensaio, utilizando a média geral dos dois genótipos, os pontos de máxima da AACPS e da AACPL e menor período latente foram estimados nas concentrações de 9100, 9025 e 9825 conídios mL⁻¹, respectivamente.
2. No primeiro ensaio, os máximos valores de AACPS e AACPL e menor período latente, em plantas de 'Perinha Água Branca', foram estimados nas concentrações de 9475, 9475 e 9325 conídios mL⁻¹, respectivamente.
3. No primeiro ensaio, o menor período de incubação foi estimado com 9872 conídios mL⁻¹, para 'Mascot'.
4. Plantas de 'Perinha Água Branca' apresentam menor período de incubação na concentração de 11239 conídios mL⁻¹.
5. Para a inoculação de *S. solani* em plantas de tomateiro recomenda-se utilizar a concentração de 1x10⁴ conídios mL⁻¹.

Efeito da concentração de conídios na infecção em frutos de tomateiro, em câmara de crescimento

1. O *S. solani* é capaz de infectar frutos de tomateiro e sua infecção é favorecida com a presença de ferimentos, independente da concentração da suspensão.
2. A infecção do *S. solani*, em frutos sem ferimentos de tomateiro, é favorecida com o uso de suspensões mais concentradas.

Efeito da idade da planta e da folha na infecção de *S. solani* em plantas de tomateiro

1. Plantas de 'Perinha Água Branca' com 19 folhas são mais suscetíveis do que plantas com 14 folhas.
2. A severidade da mancha-de-estenfílio foi maior em folhas mais velhas (baixeiras), este efeito acentua-se com o desenvolvimento da planta.

13. REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. 948p.
- ALVARENGA, M. A. P. **Tomate** – Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: Editora UFLA, 2004. 400p.
- BASALLOTE-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. **Infection and Sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* on Tomatoes, and Comparisons with Other Pathogen-suscept Systems**. Ph.D. Thesis, Ramat Gan (Israel): Bar Han University, 1974.
- BASHI, E.; ROTEM, J. Effect of light on sporulation of *Alternaria porri* f. sp. *solani* and of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in vivo. **Phytoparasitica**, v. 3, n. 1, p. 63-67, 1975a.
- BASHI, E.; ROTEM, J. Host and biotic factors affecting sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* on tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* on potatoes. **Phytoparasitica**, v. 3, n. 1, p. 27-38, 1975b.
- BASHI, E.; ROTEM, J.; PUTTER, J. Effect of wetting duration, and of other environmental factors, on the development of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes. **Phytoparasitica**, v. 1, n. 2, p. 87-94, 1973.
- BEHARE, J.; LATERROT, H.; SARFATTI, M.; ZAMIR, D. Restriction Fragment Length Polymorphism Mapping of the *Stemphylium* Resistance Gene in Tomato. **Mol. Plant-microbe interactions**, v. 4, n. 5, p. 489-492, 1991.
- BENTES, J. L. S.; MATSUOKA, K. Localização de peróxido de hidrogênio durante a resposta de defesa de tomateiro contra *Stemphylium solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 643-646. 2005.
- 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. **Fitopatol. Bras.**, 16, p. 280–283, 1991.
- CARVALHO, Y.; CHAVES, G. Aspectos epidemiológicos da queima das folhas da cenoura (*Daucus carota* L) causada por *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Skolko: efeito da concentração de inóculo e determinação do período de geração de *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Skolko. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 6, n. 1, 2007.
- DIENER, U. L. A method for inducing abundant sporulation of *Stemphylium solani* in pure culture. **Phytopathology**, v. 42, n. 1, p. 7, 1952.
- DOMINGUES, D. P. **Etiologia e controle da mancha-de-estenfílo do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no estado do Rio de Janeiro**. 81f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.

DOMINGUES, D. P.; SANTOS, C. A. dos; KOWATA-DRESCH, L. S.; ABOUD, A. C. S.; CARMO, M. G. F. do. Progresso da mancha-de-estenfílio e da requeima em cultivares comerciais de tomateiro sob manejo orgânico. Dados não publicados.

FALLOON, P. G.; FALLOON, L. M.; GROGAN, R. G. Etiology and epidemiology of *Stemphylium* leaf spot and purple spot of asparagus in California. **Phytopathology**, v. 77, p. 407-413, 1987.

FAYAD, J. A.; FONTES, P. C. R.; CARDOSO, A. A.; FINGER, F. L.; FERREIRA, F. A. Crescimento e produção do tomateiro cultivado sob condições de campo e ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 19, p. 365-370, 2001

FERNANDES, C. D.; DEL PELOSO, M. C.; MAFFIA, L. A.; DO VALLE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. Influência da concentração de inóculo de *Cercospora coffeicola* e do período de molhamento foliar na intensidade da cercosporiose do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 16, p. 39-43, 1991.

DENARDI, F.; BERTON, O.; SPENGLER, M. M. Resistência genética à podridão amarga em maçãs, determinada pela taxa de desenvolvimento da doença em frutos com e sem ferimentos. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 1.25, n. 3, p. 494-497, 2003. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452003000300033&lng=en&nrm=iso. ISSN 0100-2945. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452003000300033>.

JAKHAR, S. S.; DUHAN, J. C.; SUHAG, L. S. Studies on conidial germination and factors affecting disease development of *Stemphylium* blight of onion. **Indian Phytopathology**, v. 49, p. 362-365, 1966,

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.

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.

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: Doenças das plantas cultivadas**, v. 2, São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 1997, 705 p.

MEHTA, Y. R.; ARIAS, C. A. A. Herança da resistência a *Stemphylium solani* e insensibilidade a sua fitotoxina em cultivares de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 761-765, 2001.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; ESTELLES, R. S. Efeitos da idade da planta, concentração do inóculo e período úmido no controle de *Senna obtusifolia* por *Alternaria cassiae*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. **Comunicado técnico**, n. 84, 2003 4p.

MENZIES, S. A.; BANSAL, R. K.; BROADHURST, P. G. Effect of environmental factors on severity of *Stemphylium* leaf spot on asparagus, New Zealand. **J. Crop and Hortic. Sci.**, v. 19, n. 2, p. 135-141, 1991.

MWAKUTUYA, E.; BANNIZA, S. Influence of temperature and wetness periods on the development of *Stemphylium* blight on lentil. **Plant Dis.**, v. 94, p. 1219-1224, 2010.

NAMEKATA, T.; TOKESHI, H. Variabilidade de *Stemphylium solani*, Weber, agente causal de mancha foliar do tomateiro, no estado de São Paulo. **Anais da E.S.A Luiz de Queiroz**, v. 13, p. 273-288, 1967

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

OLIVEIRA, G. M.; PEREIRA, D. D.; CAMARGO, N. C.; BALAN, M. G.; CANTERI, M. G.; IGARASHI, S.; SAAB, O. J. G. A. Controle da ferrugem da folha do trigo (*Puccinia triticina*) em diferentes momentos de aplicação de fungicida. **Arq. Inst. Biol.**, v. 80, n. 4, p. 436-441, 2013. http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v80_4/436-441.pdf

PAULUS, A. D.; 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, 1955.

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

REIS, A.; LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. Mancha-de-estenfílio: ressurgimento de um antigo problema do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, n. 41, 2006.

REIS, L. S.; AZEVEDO, C. A. V.; ALBUQUERQUE, A. W.; JUNIOR, J. F. S. Índice de área foliar e produtividade do tomate sob condições de ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 4, p. 386-391, 2013.

ROTEM, J. Thermoxerophytic properties of *Alternaria porri* f. sp. *solani*. **Phytopathology**, v. 58, p. 1284-1287, 1968.

ROTEM, J.; BASHI, E. A review of the present status of the *Stemphylium solani* in tomato foliage. **Phytoparasitica**, n. 5, v. 1, p. 45-48, 1977.

ROTEM, J.; COHEN, Y. The relationship between mode of irrigation and severity of tomato foliage diseases in Israel. **Plant Disease Reporter**, v. 50, p. 635 – 639, 1966.

ROTEM, J.; COHEN, Y.; BASHI, E. Host and environmental influences on sporulation *in vivo*. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 16, p. 83-101, 1978.

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

SANTOS, J. R. M. Protocolo de tecnologia: Seleção para resistência a doenças em hortaliças. Brasília: Embrapa Hortaliças. **Comunicado técnico**, v. 11, 1999, 4p.

SANTOS, J. P.; CORRENT, A. R.; BERTON, O.; SCHWARZ, L. L.; DENARDI, F. Incidência de podridão-branca em frutos de macieira com e sem ferimentos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 118-121, 2008.

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-9452008000100022&lng=en&tlng=pt. 10.1590/S0100-29452008000100022.

SEDIYAMA, M. A. N.; FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. Práticas culturais adequadas ao tomateiro. **Informe Agropecuário**, v. 24, p. 19-25, 2003.

SENHOR, R. F.; CÂMARA, M. P. S.; PRICHOA, L. F.; LIMA, M. B.; SALES JUNIOR, R.; MICHEREFF, S. J. Influência do método de inoculação, intensidade do fermento e idade do fruto na severidade da podridão-de-cratera em melão. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 3, 232-237, 2008. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052008000300005&lng=en&tlng=pt. 10.1590/S0100-54052008000300005.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, n. 67, p. 1051-1056, 1977.

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

SUHERI, H.; PRICE, T.V. The epidemiology of purple leaf blotch on leeks in Victoria, Australia. **Eur. J. Plant Pathol.**, v. 107, p. 503-510, 2001.

SUTTON, J. C. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, p. 305-312, 1988.

VLOUTOGLOU, I.; KALOGERAKIS, S. N. Effects of inoculum concentration, wetness duration and plant age on development of early blight (*Alternaria solani*) and on shedding of leaves in tomato plants. **Plant Path.**, v. 49, p. 339-345, 2000.

WELLS, H. D.; FORBES, I.; MARKHAM, C. R. A. A black, readily sporulating mutant of *Stemphylium solani* susceptible biotypes of blue lupine. **Phytopathology**, v. 61, p. 575-577, 1971.

CAPITULO III

Avaliação de acessos de tomateiro quanto à resistência à mancha-de-estenfilio em casa-de-vegetação

RESUMO

A ocorrência da mancha-de-estenfílio nas lavouras de tomate impulsiona estudos sobre melhoramento genético, uma vez que, esta é a forma mais eficiente de controle para a doença. Este trabalho teve como objetivo selecionar genótipos promissores de tomateiro para futuros trabalhos com melhoramento e obter uma forma mais prática de avaliação da doença. Para tanto, o progresso da mancha-de-estenfílio foi avaliado em 55 genótipos em três estádios de desenvolvimento da planta: de 21 a 36; de 56 a 81 e de 108 a 118 dias após a semeadura, em casa-de-vegetação (ensaio 1). A severidade da doença foi estimada e os dados utilizados para calcular a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Compararam-se os resultados utilizando a AACPD com a severidade em cada data de avaliação, para verificar se a severidade poderia ser avaliada em um único momento. Após este ensaio, foram selecionados oito genótipos (seis acessos promissores e duas testemunhas suscetíveis) para o ensaio 2, em condições controladas e propícias ao progresso da doença (25°C diurno e 15°C noturno, com 12 horas de fotoperíodo e 80% de umidade relativa). As variáveis obtidas foram: severidade; número de lesões (NL); diâmetro das lesões (DL); período (em dias) de incubação (PI) e o período latente (PL). Foram calculadas as AACPD das três primeiras variáveis (AACPD; AACPNL e AACPDL) e de uma nova variável obtida multiplicando o NL pelo DL (AACPL). No ensaio 1, os genótipos foram separados em dois grupos. A intensidade da doença foi maior no terceiro estádio, plantas adultas, do que no segundo e, principalmente, do primeiro estádio. Somente o acesso ENAS 1136 e ENAS 1143 foram classificados como suscetíveis nos três estádios avaliados, sendo estes selecionados como padrões de suscetibilidade à mancha-de-estenfílio. A avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro, mantidas em casa-de-vegetação até 118 dias após a semeadura deve ser continuada e não pontual. Seis acessos (ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1217 e ENAS 1223) que se destacaram pelo menor progresso da doença e por apresentarem outras características relevantes (frutos de boa aceitabilidade pelo consumidor, alta produtividade e resistência a requeima - *Phytophthora infestans*) foram selecionados para a fase posterior dos ensaios em campo. No ensaio 2, o acesso ENAS 1217 destacou-se como o mais resistente com maior período de incubação (11) e latente (14,67); e menores AACPS (1,88), AACPNL (1,07) e AACPDL (1,44). A maior suscetibilidade à doença foi registrada nos genótipos: ENAS 1031 (PI = 4,78; AACPS = 35,73); ENAS 1136 (PI = 4,33; AACPS = 29,55; AACPL = 23,85) e ENAS 1143 (PI = 4,33; PL = 9,44; AACPS = 26,54). De acordo com os dados da AACPL, os acessos ENAS 1217 (0,58) e ENAS 1223 (3,18) destacaram-se como os mais promissores.

Palavras-chaves: *Stemphylium solani*, infecção, resistência genética.

14. INTRODUÇÃO

A mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro é atribuída a quatro espécies do gênero *Stemphylium*, *S. solani* Weber; *S. lycopersici* (Enjoji) W. Yamamoto (syn. *S. floridanum* Hannon & G. F. Weber), *S. botryosum* Wallr. e *S. vesicarium* (Wallr) Simmons. Destas, apenas as duas primeiras têm a sua ocorrência relatada nas condições brasileiras (REIS *et al.*, 2006).

A mancha-de-estenfílio foi, durante muito tempo, considerada uma doença de importância secundária. Contudo, sob condições favoráveis e na presença de plantas suscetíveis pode causar sérias perdas à cultura (KRANZ, 1977; KUROSAWA & PAVAN, 1997). Entre os danos decorrentes da infecção está a redução da área fotossinteticamente ativa, com consequências na produtividade da planta, especialmente da porção apical, uma vez que a incidência é maior em folhas mais novas (KUROSAWA & MUSSI, 1995). Embora existam relatos que o patógeno ataque o tomateiro em qualquer estágio fenológico (ROTEM & BASHI 1977; KUROSAWA & MUSSI, 1995). Bashi (1974) citado por Rotem & Bashi (1977) verificou que plantas de tomateiro mantidas em condições controladas apresentavam respostas distintas à infecção pelo patógeno conforme o estágio fenológico.

A estratégia de controle para mancha-de-estenfílio consiste na eliminação de restos culturais logo após a última colheita, restrição ao plantio próximo de espécies hospedeiras; rotação com culturas não-hospedeiras, uso de genótipos resistentes e aplicação de fungicidas (KUROSAWA & PAVAN, 1977). Embora o controle químico seja comumente empregado nas lavouras de tomate, o genético é o mais eficiente (KUROSAWA & PAVAN 1997). Circunstância que impulsiona estudos na área do melhoramento genético, motivado também por dúvidas sobre a expressão da resistência em diferentes estádios da planta. Uma vez que em algumas culturas, a resistência pode se expressar apenas na fase de plântula (“seedling”) ou na fase adulta (CAMARGO & BERGAMIN FILHO, 1995).

Geralmente, a resistência que se manifesta na fase de plântula é específica para raça e chamada de resistência completa, conferida por poucos genes. Ao passo que, a resistência parcial é conferido por um número maior de genes, não é específica para raça e se manifesta na fase adulta (BARCELLOS *et al.*, 1997). Há também espécies que podem apresentar resistência tanto na fase de plântula como adulta, como plantas de resistentes à infecção de ferrugem (*Puccinia triticina*) (BARCELLOS *et al.*, 1997). Algumas doenças, como a requeima da batata, causada por *Phytophthora infestans*, e a pinta preta do tomateiro, causada por *Alternaria solani*, apresentam um período de suscetibilidade juvenil durante o estágio de crescimento da planta, seguido por um período de relativa resistência no início do estágio adulto e depois de suscetibilidade após a maturação (MICHEREFF, 2001).

Sabendo que determinadas espécies respondem de forma distinta à infecção de patógenos em cada estágio fenológico, são necessários estudos sobre a chegada de inóculo em diferentes estádios fenológicos do tomateiro. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta de genótipos da coleção do Laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes da UFRRJ, em diferentes estádios de desenvolvimento, quanto à infecção de *S. Solani* e selecionar genótipos promissores para programa futuros de melhoramento. O presente trabalho teve também como objetivo verificar se é possível substituir as avaliações da severidade integralizadas no tempo por avaliações pontuais.

15. MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações dos acessos de tomateiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio foram feitas em três estádios de desenvolvimento da planta contadas a partir da semeadura (DAS): de 21 a 36 DAS, de 56 a 81 DAS e de 108 a 118 DAS, no período de agosto a dezembro de 2012 (ensaio 1). Após a seleção, escolheram-se alguns genótipos para testes em condições controladas e ambiente mais propício ao progresso da doença (ensaio 2).

Para produção de inóculo foi utilizado o isolado de *S. solani* preservado em óleo, pertencente à coleção do laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ): SENA302 - procedente de Paty do Alferes-RJ (22° 25' 10" S, 43° 25' 21" O, 624 metros de altitude). O fungo foi cultivado em meio V8 CaCO₃ ágar (200 mL suco V8, 17 g Agar, 800 mL de água destilada e 3 g de CaCO₃ - DIENER, 1952) e mantido a 25°C por 10 dias e depois cinco dias a 15°C para estimular a esporulação, ambas as temperaturas com 12 horas de fotoperíodo.

15.1. Avaliação inicial de genótipos de tomateiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio (ensaio 1)

O ensaio foi realizado no período de agosto a setembro de 2012 utilizando-se 55 genótipos. Destes, 49 eram acessos da coleção do Laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes, do Instituto de Agronomia da UFRRJ e seis eram cultivares ('Débora Plus', 'Dominador', 'Serato', 'Santa Clara', 'Perinha Água Branca' e 'Mascot') (Tabela 29). A semeadura foi realizada em bandejas de polipropileno com 128 células contendo a mistura na proporção 1:1 de substrato da marca Plantmax® - hortaliças e substrato orgânico, constituído por vermicomposto, carvão vegetal e torta de mamona (OLIVEIRA, 2011). Cada linha transversal ao comprimento da bandeja (oito células) recebeu um genótipo, exceto as duas linhas laterais que foram mantidas como bordadura e na qual foram semeadas as sementes do acesso ENAS 1170.

Na sequência, as bandejas foram acomodadas em casa-de-vegetação e irrigadas conforme necessidade hídrica. Aos 10 dias após o semeio efetuaram-se desbastes e repicagens objetivando melhor uniformidade das plantas nas diferentes parcelas. Os dados de temperatura e umidade relativa foram monitorados com USB datalogger.

As plantas foram inoculadas com suspensão contendo 1×10^4 conídios mL⁻¹, ao atingir um par de folhas definitivas expandidas (21 DAS). As pulverizações foram feitas com atomizador (marca Ace hardware corp) nas faces adaxial e abaxial das folhas até o ponto de escorrimento. Em seguida, as plantas permaneceram em câmara úmida, fornecida por nebulizador e cobertura plástica, durante 48 horas.

A primeira série de avaliações foi feita em plantas com 21 a 36 DAS. A severidade foi avaliada com o auxílio da escala diagramática de Boff *et al.* (1991) aos 3; 5; 7; 9; 11; 13 e 15 dias após a inoculação (DAI) nos três folíolos terminais de cada folha (duas folhas por planta). O delineamento utilizado foi blocos ao caso, com três blocos e oito plantas por parcela, sendo a primeira e última planta considerada bordadura, total de 12 bandejas.

A segunda série de avaliações foi feita em plantas entre 56 a 81 DAS. Para tanto, as mudas dos diferentes genótipos foram transplantadas para copos plásticos de 500 mL (uma planta por copo) contendo o mesmo substrato anteriormente utilizado. Aos 56 DAS, as plantas foram inoculadas seguindo-se a mesma metodologia descrita anteriormente. A severidade foi avaliada aos 6; 8; 11; 14; 18; 21 e 25 dias após a inoculação nos três folíolos terminais de todas as folhas da planta. O delineamento utilizado foi blocos ao caso, com quatro blocos e uma planta por parcela.

Na terceira série de avaliações utilizaram-se plantas entre 108 e 118 DAS, transplantadas para vasos de 2,5 L contendo solo + esterco (proporção 2:1). Para cada genótipo foram preparados três vasos e três plantas por vaso. A inoculação seguiu mesma metodologia descrita nos ensaios anteriores. A severidade foi avaliada aos 3; 7 e 10 DAI, nos três folíolos terminais de todas as folhas das três plantas de cada vaso. O delineamento utilizado foi blocos ao caso, com quatro blocos sendo a parcela composta por um vaso contendo três plantas.

Tabela 29. Genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) testados quanto à suscetibilidade a mancha-de-estenfilio (*Stemphylium solani*), em condições de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

CÓDIGO	CLASSE	EMPRESA/INSTITUIÇÃO	NOME	PROCEDÊNCIA
‘Débora Plus’	Híbrido	Sakata	Débora Plus	--
‘Santa Clara’	Cultivar	Agristar (Topseed Premium)	Santa Clara	--
‘Serato’	Híbrido	Agristar (Topseed Premium)	Serato	--
‘Dominador’	Híbrido	Zeraim Gedera	Dominador	--
‘Mascot’	Híbrido	TopSeed	‘Mascot’	--
‘Perinha Água Branca’	Cultivar	UFRRJ	‘Perinha Água Branca’	--
ENAS 1006	Acesso	UFRRJ	I Cereja Amarelo	França
ENAS 1007	Acesso	UFRRJ	A	França
ENAS 1008	Acesso	UFRRJ	Chocolate	França
ENAS 1009	Acesso	UFRRJ	M Amarelo	França
ENAS 1012	Acesso	UFRRJ	Perinha Vermelho	França
ENAS 1016	Acesso	UFRRJ	Cereja Laranja	Seropédica/UFRRJ
ENAS 1017	Acesso	UFRRJ	Cereja Riscado	Seropédica/UFRRJ
ENAS 1025	Acesso	UFRRJ	G	França
ENAS 1026	Acesso	UFRRJ	F	França
ENAS 1029	Acesso	UFRRJ	Perinha Amarelo	França
ENAS 1031	Acesso	UFRRJ	Chadwick Cherry	EUA
ENAS 1033	Acesso	UFRRJ	Bolinha Amarelo	--
ENAS 1036	Acesso	UFRRJ	--	--
ENAS 1037	Acesso	UFRRJ	Cipó Amarelo	--
ENAS 1040	Acesso	UFRRJ	ES-4C	Espirito Santo
ENAS 1043	Acesso	UFRRJ	--	--
ENAS 1057	Acesso	UFRRJ	ES-5C	Espirito Santo
ENAS 1060	Acesso	UFRRJ	ES-4F	Espirito Santo
ENAS 1064	Acesso	UFRRJ	--	--
ENAS 1067	Acesso	UFRRJ	ES-3B	Espirito Santo
ENAS 1077	Acesso	UFRRJ	ES-1 ^a	Espirito Santo
ENAS 1079	Acesso	UFRRJ	42x	--
ENAS 1083	Acesso	UFRRJ	37x	--
ENAS 1106	Acesso	UFRRJ	41x	--
ENAS 1111	Acesso	UFRRJ	17x	--
ENAS 1112	Acesso	UFRRJ	56x	--
ENAS 1116	Acesso	UFRRJ	58x	--
ENAS 1119	Acesso	UFRRJ	9x	--

Continuação...

				<i>Continuação...</i>
ENAS 1126	Acesso	UFRRJ	4G	--
ENAS 1127	Acesso	UFRRJ	6B	--
ENAS 1136	Acesso	UFRRJ	5G	--
ENAS 1141	Acesso	UFRRJ	6B	--
ENAS 1143	Acesso	UFRRJ	--	--
ENAS 1144	Acesso	UFRRJ	--	--
ENAS 1147	Acesso	UFRRJ	5D	
ENAS 1149	Acesso	UFRRJ	--	
ENAS 1152	Acesso	UFRRJ	7	--
ENAS 1170	Acesso	UFRRJ	G-14	--
ENAS 1174	Acesso	UFRRJ	--	--
ENAS 1187	Acesso	UFRRJ	53X	--
ENAS 1213	Acesso	UFRRJ	IAC 405	Campinas-SP
ENAS 1216	Acesso	UFRRJ	IAC 401	Campinas-SP
ENAS 1217	Acesso	UFRRJ	IAC 400	Campinas-SP
ENAS 1218	Acesso	UFRRJ	IAC 420	Campinas-SP
ENAS 1219	Acesso	UFRRJ	IAC 403	Campinas – SP
ENAS 1222	Acesso	UFRRJ	IAC 1622	Campinas-SP
ENAS 1223	Acesso	UFRRJ	IAC 395	Campinas-SP
ENAS 1225	Acesso	UFRRJ	IAC 422	Campinas-SP
ENAS 1226	Acesso	UFRRJ	IAC 404	Campinas-SP
ENAS 1245	Acesso	UFRRJ	Sol Amarelo	Seropédica/UFRRJ

15.2. Avaliação de genótipos pré-selecionados quanto a resistência à mancha-de-estenfílio

O ensaio foi realizado no período de junho a agosto de 2013, utilizando-se oito acessos selecionados no ensaio anterior, sendo dois caracterizados como suscetíveis à mancha-de-estenfílio (ENAS 1136 e ENAS 1143) e seis caracterizados como promissores devido a resistência a mancha-de-estenfílio, além de possuírem boas características de fruto (ENAS 1012 e ENAS 1031) (ROCHA, 2008), ou alta produtividade e/ou resistência à requeima (*Phytophthora infestans*) (ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1217 e ENAS 1223) (COSTA, 2013).

As sementes dos diferentes acessos foram semeadas e as mudas conduzidas seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente. Aos 25 DAS, quando as mudas continham cerca de três folhas verdadeiras totalmente expandidas, foram transplantadas para copos plásticos de 110 mL contendo o mesmo substrato já descrito. Previamente à inoculação, aclimataram-se as plantas por 24 horas em câmara de crescimento regulada para 25°C diurno e 15°C noturno (conforme o estabelecido no capítulo II) e 12 horas de fotoperíodo. Em seguida, atomizaram-se as plantas com suspensão contendo 1×10^4 conídios mL⁻¹ de *S. solani* até ponto de escorrimento, as quais foram mantidas na mesma câmara, em 100% de UR durante 48 horas. Após este período a umidade relativa foi ajustada para 80%. Para suprimento de nutrientes, as mudas foram adubadas com 5,0 mL solução nutritiva diluída 1:2,5 (101,1 g de KNO₃ e 136,1 g de KH₂PO₄ . por litro) na primeira e segunda semana.

Quantificou-se a severidade com auxílio de escala diagramática (BOFF *et al.*, 1991) nos três folíolos terminais de cada folha e em três folhas por planta. As avaliações iniciaram-se no terceiro dia após a inoculação e prosseguiram em dias alternados até o 11 DAI. Além da

severidade, quantificaram-se as seguintes variáveis: número médio de lesões por folha (NL); diâmetro médio das lesões (DL); período de incubação (período entre a inoculação e o surgimento dos sintomas) e período latente (período entre a inoculação e o surgimento da esporulação em 50% das plantas). O delineamento foi em blocos ao caso, com três blocos (sendo avaliadas três plantas de cada genótipo por bloco).

15.3 Análise de dados

Para estudo do progresso da mancha-de-estenflíio, depois de obtida a severidade média por planta calcularam-se os valores de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (SHANER & FINNEY, 1977). O mesmo procedimento foi adotado para o NL (AACPNL) e o DL (AACPL) Adicionalmente, foi obtida a variável multiplicando o número de lesões por seu diâmetro e calculada a AACPL. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). No ensaio 1, utilizou-se o teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade de erro para agrupar os genótipos e verificou-se se o resultado obtido com a severidade em cada data de avaliação permanecia o mesmo quando utilizando a AACPD. No ensaio 2, teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado para separação de médias. Nos dois ensaios, o programa estatístico empregado foi o SISVAR (versão 5.3). Quando necessário, os dados foram transformados por raiz quadrada ($\sqrt{x+1}$).

16. RESULTADOS E DISCUSSÃO

16.1 Avaliação inicial de genótipos de tomateiro quanto a resistência à mancha-de-estenfílio (ensaio 1)

Na primeira série de avaliações, dos 21 aos 36 DAS, observou-se efeito significativo de genótipo e de bloco (Tabela 30). Neste caso, foi observado maior severidade no bloco 1 quando comparado aos demais.

Tabela 30. Análise de variância para efeito de genótipo na Área Abaixo da Curva de Progresso da mancha-de-estenfílio em 55 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculados com o isolado SENA 302 de *Stemphylium solani*, em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Fonte de Variação	Graus de liberdade			Quadrado médio ^x		
	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3	Estádio 1	Estádio 2	Estádio 3
Bloco	2	3	2	2,84*	9,68	10,05
Genótipo	54	54	54	2,03*	13,37*	9,15*
Erro	108	162	108	0,53	4,47	5,12
CV (%)				44,15	72,36	61,13

*Diferença estatística ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

Estádio 1: 21 a 36 DAS; Estádio 2: de 56 a 81 DAS; Estádio 3: de 108 a 118 DAS

Os genótipos foram agrupados pelo teste de Scott Knot ($p < 0,05$) em dois grupos distintos de acordo com os valores de AACPD. Os acessos ENAS 1116; ENAS 1079; ENAS 1057; ENAS 1147; ENAS 1143; ENAS 1126 e ENAS 1136 destacaram-se como os mais suscetíveis, com maiores valores de AACPD (Tabela 31). Na segunda série de avaliações observou-se novamente a formação de dois grupos e resultados similares onde se destacaram como suscetíveis os acessos ENAS 1116; ENAS 1147; ENAS 1143; ENAS 1149; ENAS 1187 e ENAS 1136 (Tabela 31). E na terceira série, com plantas adultas (108 DAS) persistiu a distinção em dois grupos, porém com maior número de genótipos suscetíveis: ENAS 1218; ENAS 1026; ENAS 1152; ENAS 1143; ENAS 1006; ENAS 1077; ENAS 1112; ENAS 1149; ENAS 1111; ENAS 1187; ENAS 1126; ENAS 1127; ENAS 1106; ENAS 1136; ENAS 1174; ENAS 1222; ENAS 1245 e ENAS 1141. Note-se que, nas três séries de avaliações, genótipos já caracterizados como suscetíveis, ‘Serato’ e ‘Perinha Água Branca’ (DOMINGUES, 2012) foram enquadrados no mesmo grupo de ‘Mascot’ e ‘Dominador’, caracterizados como resistentes por Domingues (2012).

Tabela 31. Mancha-de-estenfilio em 55 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculados com o isolado SENA 302 de *Stemphylium solani*, em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014

Genótipos	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença ^x					
	Estádio 1		Estádio 2		Estádio 3	
‘Dominador’	0,00	b	0,00	b	0,00	b
ENAS 1223	0,20	b	0,00	b	0,00	b
ENAS 1025	1,54	b	0,00	b	0,00	b
‘Mascot’	0,00	b	16,75	b	0,00	b
‘Santa Clara’	0,00	b	3,00	b	2,00	b
ENAS 1170	0,30	b	0,00	b	3,00	b
ENAS 1031	0,70	b	0,00	b	4,00	b
ENAS 1008	0,00	b	0,00	b	4,33	b
ENAS 1226	0,00	b	4,50	b	4,33	b
ENAS 1036	0,58	b	0,67	b	5,33	b
‘Débora Plus’	0,70	b	9,00	b	5,33	b
ENAS 1216	2,83	b	27,33	b	5,67	b
ENAS 1067	0,18	b	11,16	b	6,00	b
ENAS 1064	3,13	b	4,50	b	6,33	b
ENAS 1213	0,74	b	5,75	b	6,33	b
ENAS 1040	4,65	b	9,66	b	6,33	b
ENAS 1009	2,63	b	11,91	b	6,67	b
ENAS 1012	0,13	b	12,66	b	6,67	b
‘Serato’	0,85	b	7,08	b	6,67	b
ENAS 1217	0,41	b	7,75	b	7,33	b
ENAS 1017	0,00	b	4,08	b	7,67	b
ENAS 1116	16,91	a	123,84	a	8,33	b
ENAS 1016	0,00	b	14,58	b	8,33	b
‘Perinha Água Branca’	0,21	b	3,17	b	9,00	b
ENAS 1144	0,02	b	12,08	b	10,66	b
ENAS 1060	5,70	b	5,08	b	11,33	b
ENAS 1079	12,83	a	2,58	b	12,00	b
ENAS 1007	0,00	b	3,58	b	12,00	b
ENAS 1225	4,56	b	10,67	b	13,00	b
ENAS 1083	1,65	b	14,91	b	14,00	b
ENAS 1033	2,25	b	4,25	b	15,00	b
ENAS 1037	0,00	b	4,08	b	16,33	b
ENAS 1043	0,00	b	0,33	b	18,33	b
ENAS 1057	12,42	a	26,50	b	20,33	b
ENAS 1218	0,26	b	13,83	b	20,50	a
ENAS 1119	0,00	b	2,58	b	22,00	b
ENAS 1147	9,00	a	63,83	a	22,67	b
ENAS 1029	2,43	b	9,00	b	23,00	b
ENAS 1026	0,00	b	5,58	b	24,33	a
ENAS 1152	0,33	b	14,08	b	25,00	a
ENAS 1143	11,39	a	27,83	a	25,33	a
ENAS 1006	0,00	b	7,67	b	27,00	a
ENAS 1077	1,11	b	23,67	b	31,33	a

continuação...

	<i>continuação...</i>		
ENAS 1112	3,33 b	0,92 b	32,67 a
ENAS 1149	2,41 b	70,25 a	33,00 a
ENAS 1111	1,37 b	2,50 b	33,33 a
ENAS 1187	2,92 b	42,83 a	33,33 a
ENAS 1126	12,76 a	15,33 b	39,00 a
ENAS 1127	0,05 b	3,92 b	40,00 a
ENAS 1106	4,68 b	30,08 b	41,67 a
ENAS 1136	15,67 a	47,89 a	43,00 a
ENAS 1174	2,85 b	7,50 b	47,33 a
ENAS 1222	0,20 b	2,41 b	49,67 a
ENAS 1245	1,48 b	4,83 b	60,67 a
ENAS 1141	0,48 b	7,08 b	118,00 a

^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

Estádio 1: 21 a 36 DAS; Estádio 2: de 56 a 81 DAS; Estádio 3: de 108 a 118 DAS

De acordo com os dados obtidos neste ensaio, ao longo do desenvolvimento do tomateiro, houve o aumento do número de genótipos com a expressão dos sintomas da mancha-de-estenfilio, indicando que as plantas de tomateiro podem se tornar mais suscetíveis com a idade. Contrariando esta informação, Bentes & Matsuoka (2005a) verificaram que plantas semeadas em cinco épocas diferentes (sete; 14; 21; 28 e 35 dias de idade) não apresentaram diferença entre si dentro de uma mesma cultivar, em diferentes estádios fenológicos. Todavia, Bentes & Matsuoka (2005a) testaram plantas com no máximo 35 dias, enquanto que neste trabalho foram utilizadas plantas com mais dias de idade nos dois últimos estádios.

Bashi (1974) citado por Rotem & Bashi (1977) verificou que plantas de tomateiro, mantidas em condições controladas, quando muito jovens (26 dias após a semeadura) são relativamente resistentes e que a suscetibilidade aumenta quando as plantas estão com 42 a 56 dias, e posteriormente diminui com a idade (68 a 110 dias). Reafirmando esta informação, apesar de ser relatada na literatura que a mancha-de-estenfilio afeta o tomateiro em diferentes estádios de desenvolvimento, desde a fase de plântula até a colheita (ROTEM & BASHI 1977; KUROSAWA & MUSSI, 1995). Alguns autores afirmam que em condição de campo, há a ocorrência de lesões ocasionais em plantas jovens, mas a incidência da doença aumenta com a idade da planta e atinge o pico máximo na época da colheita (ROTEM, 1968; ROTEM & COHEN, 1966).

Hannon & Weber (1955) reportaram que embora o gene que confere resistência a *Stemphylium* já tenha sido identificado e, ainda, existam variedades comerciais resistentes a este patógeno, os mecanismos responsáveis pela expressão desta resistência ainda são desconhecidos. Esta informação data de 1955 e persistem dúvidas sobre o entendimento dos mecanismos estruturais e bioquímicos de resistência de tomateiro ao patógeno (BENTES & MASTUOKA, 2005b).

Outro fator que pode ter contribuído com as respostas distintas de cada genótipo em diferentes fases de desenvolvimento, pode ser relacionado com a resistência de planta adulta e de “seedling”. Segundo Camargo & Bergamin Filho (1995), este tipo de resistência refere-se ao estádio de desenvolvimento da planta em que a mesma é expressa. A resposta distinta do hospedeiro em cada estádio fenológico pode estar relacionada aos tipos de raças do patógeno. Nametaka & Tokeshi (1967), considerando o comportamento de 33 isolados de *S. solani* provenientes de 12 municípios de São Paulo, expostos a diferentes meios de cultura e radiação

UV, patogenicidade ao tomateiro e estabilidade das características culturais, propuseram a classificação do fungo em três raças fisiológicas.

Outra ponderação a ser realizada é referente ao material genético. Neste sentido, Netzer *et al.* (1985) verificaram que a resistência em alface para o *S. botryosum* é controlado por dois genes *Sm1* e *Sm2*, dos quais um é dominante e outro recessivo. Assim, conforme a combinação genética há diferentes respostas ao ataque do patógeno. No caso da infecção tomateiro por *Stemphylium*, Hendrix & Frazier (1949) atribuem a resistência a um único gene com dominância incompleta (*Sm*).

A suscetibilidade dos genótipos à mancha-de-estenfílio foi estudada utilizando a AACPD, método muito utilizado por fitopatologista para minimizar as variações da severidade das doenças ao longo do tempo e estabelecer um valor que possa ser comparado (AGRIOS, 2005). Em contrapartida, melhoristas de plantas necessitam de meios mais práticos, visto que ao contrário dos fitopatologista que buscam entender a epidemia, estes profissionais vislumbram selecionar material genético, muitas vezes em ensaios em massa. Para auxiliar este segmento, comparou-se resultado considerando a AACPD nos três estádios de desenvolvimento com o obtido utilizando severidade média estimada em cada data de avaliação.

No primeiro estágio de desenvolvimento, foram realizadas sete avaliações e com base na análise de variância, detectou-se efeito significativo de genótipo em todas as datas avaliadas (Tabela 32). Houve diferença estatística entre blocos nas avaliações realizadas aos 26; 30; 32; 34 e 36 DAS. O teste Scott-Knott ($p < 0,05$) enquadrou os genótipos em dois grupos nas seis primeiras avaliações e em três grupos na última avaliação (Tabela 33). Tendo em vista que os genótipos foram classificados em dois grupos quando utilizada a AACPD, a sétima avaliação, aos 56 DAS, onde se formaram três grupos não é adequada para substituir a AACPD. Ainda, a AACPD não pode ser substituída por estimativas pontuais da severidade média em cada data de avaliação devido ao enquadramento dos acessos ENAS1116 (nas seis primeiras datas de avaliação) e ENAS1147 (primeira data de avaliação) no grupos dos menos suscetíveis, enquanto pertencem ao grupos dos mais suscetíveis (Tabela 33). E dos acessos ENAS1060 (segunda e terceira avaliação) e ENAS1106 (seis primeiras avaliações) por serem enquadrados no grupos dos mais suscetíveis.

A análise de variância apontou efeito significativo de genótipo em todas as datas de avaliação no segundo estágio de desenvolvimento (Tabela 32). Das sete datas de avaliação, os resultados das cinco últimas não correspondem ao observado na AACPD, por formarem três agrupamentos, e não dois (Tabela 33). Na primeira avaliação, o acesso ENAS1083, ENAS1077 e ENAS1106, classificados como menos suscetíveis de acordo com a AACPD, foram enquadrados como mais suscetíveis pelos maiores valores de severidade. Já o acesso ENAS1143, considerado suscetível pela AACPD, apresentou menor severidade nesta data. Na segunda data de avaliação, os acessos ENAS1016, ENAS1143, ENAS1077 e ENAS1106 não foram classificados no mesmo grupo que quando considerado a AACPD.

No terceiro estágio, das três datas de avaliação houve diferença estatística para genótipos somente na última (Tabela 32). Os seguintes acessos divergiram segundo a classificação utilizando a AACPD: ENAS1060, ENAS1218, ENAS1029, ENAS1026, ENAS1152 e ENAS1143 (Tabela 33).

De acordo com o observado, para tomateiro conduzido em casa-de-vegetação até 118 DAS, não é possível substituir o uso da AACPD por uma única avaliação da severidade durante o desenvolvimento da cultura.

Tabela 32. Análise de variância para efeito de genótipo em diferentes datas de avaliação da severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), durante três estádios de desenvolvimento de 55 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

FV	GL	Quadrado médio ^x							
		Estádio 1 (dias após a semeadura)							
		24	26	28	30	32	34	36	
Bloco	2	0,01	0,05*	0,05	0,08*	0,12*	0,12*	0,12*	
Genótipo	54	0,03*	0,04*	0,05*	0,07*	0,07*	0,07*	0,07*	
Erro	108	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	
CV (%)		10,04	11,53	11,43	13,01	12,84	12,76	12,63	
		Estádio 2 (dias após a semeadura)							
		62	64	67	70	74	77	81	
Bloco	3	0,19	0,18	0,14	0,13	0,13	0,36	0,41	
Genótipo	54	0,24*	0,29*	0,38*	0,46*	0,46*	0,41*	0,39*	
Erro	162	0,13	0,14	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	
CV (%)		31,94	31,11	32,09	31,50	31,50	31,21	31,53	
		Estádio 3 (dias após a semeadura)							
		111	115	118					
Bloco	2	0,12	1,45	3,08*					
Genótipo	54	0,18	1,16	2,27*					
Erro	108	0,20	0,96	0,97					
CV (%)		38,38	58,90	43,52					

*Diferença estatística ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

Tabela 33. Severidade média estimada da mancha-de-estênfilio (*Stemphylium solani*) em três estádios de desenvolvimento (21 a 56; 56 a 81 e 108 a 118 dias após a semeadura) de 55 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*, em condição de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014 .

Genótipo	Estádio 1							Estádio 2							Estádio 3		
	Severidade média (%)							Severidade média (%)							Severidade média (%)		
Dominador	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 b				
ENAS 1223	0.00 b	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.02 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00	0,00	0,00 b				
ENAS 1025	0.17 b	0.13 b	0.13 b	0.13 b	0.13 b	0.13 b	0.13 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00	0,00	0,00 b				
'Mascot'	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,33 b	0,67 b	0,83 c	0,83 c	0,83 c	1,17 c	1,17 c	0,00	0,00	0,00 b
'Santa Clara'	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,17 b	0,17 c	0,00	0,00	1,33 b				
ENAS 1170	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.04 b	0.04 b	0.02 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00	0,00	2,00 b				
ENAS 1031	0.00 b	0.06 b	0.06 b	0.06 b	0.06 b	0.06 b	0.15 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00	0,00	2,67 b				
ENAS 1008	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,83 c	0,00 c	0,00 c	0,00	0,67	1,33 b
ENAS 1226	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,50 c	0,50 c	0,50 c	0,00	0,67	1,33 b
ENAS 1036	0.02 b	0.06 b	0.04 b	0.06 b	0.06 b	0.06 b	0.04 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,33 c	0,00	0,67	2,00 b
'Débora Plus'	0.04 b	0.04 b	0.04 b	0.07 b	0.07 b	0.08 b	0.08 c	0,00 b	0,83 b	0,83 c	0,83 c	0,17 c	0,17 c	0,17 c	0,00	0,67	2,00 b
ENAS 1216	0.09 b	0.17 b	0.24 b	0.30 b	0.26 b	0.26 b	0.28 c	0,17 b	0,83 b	1,08 c	1,33 c	1,83 a	1,83 b	2,17 b	0,67	0,67	1,33 b
ENAS 1067	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.07 c	0,17 b	0,33 b	0,50 c	0,50 c	0,66 c	0,83 c	0,83 c	0,00	0,00	4,00 b
ENAS 1064	0.06 b	0.19 b	0.24 b	0.24 b	0.31 b	0.31 b	0.31 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,50 c	0,50 c	0,50 c	0,00	0,67	2,67 b
ENAS 1213	0.00 b	0.04 b	0.04 b	0.06 b	0.09 b	0.09 b	0.11 c	0,17 b	0,17 b	0,33 c	0,33 c	0,33 c	0,33 c	0,33c	0,00	0,67	2,67 b
ENAS 1040	0.28 b	0.35 b	0.31 b	0.44 b	0.43 b	0.43 b	0.44 c	0,00 b	0,33 b	0,33 c	0,50 c	0,33 c	0,33 c	1,00 c	0,00	0,67	2,67 b
ENAS 1009	0.09 b	0.11 b	0.15 b	0.28 b	0.28 b	0.28 b	0.35 c	0,17 b	0,33 b	0,83 c	0,83 c	0,83 c	0,33 c	0,50 c	1,33	0,00	2,67 b
ENAS 1012	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.02 c	0,50 b	0,33 b	0,67 c	0,67 c	0,83 c	0,66 c	0,66 c	0,67	0,67	2,00 b
Serato	0.07 b	0.06 b	0.06 b	0.07 b	0.07 b	0.07 b	0.07 c	0,17 b	0,33 b	0,33 c	0,33 c	0,33 c	0,50 c	0,50 c	0,00	1,33	1,33 b
ENAS 1217	0.04 b	0.04 b	0.04 b	0.04 b	0.04 b	0.04 b	0.04 c	0,17 b	0,17 b	0,33 c	0,33 c	0,67 c	0,67 c	0,17 c	0,00	0,67	3,33 b
ENAS 1017	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,00 b	0,17 c	0,33 c	0,22 c	0,22 c	0,22 c	0,00	1,33	2,00 b
ENAS 1116	0.18 b	0.28 b	0.26 b	0.44 b	0.44 b	0.44 b	0.76 b	5,73 a	6,13 a	6,27 a	7,02 a	5,86 a	7,07 a	7,07 a	0,00	0,67	4,00 b
ENAS 1016	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,17 b	1,39 a	1,00 c	1,00 c	0,50 c	0,66 c	0,66 c	0,00	0,67	4,00 b
Perinha	0.00 b	0.00 b	0.02 c	0,00 b	0,00 b	0,17 c	0,33 c	0,83 c	0,17 c	0,17 c	0,67	1,33	2,00 b				
ENAS 1144	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.02 c	0,00 b	0,17 b	0,33 c	0,33 c	1,17 c	1,17 c	0,67 c	2,00	1,33	1,33 b
ENAS 1060	0.32 b	0.48 a	0.52 a	0.26 b	0.57 b	0.57 b	0.57 b	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,67 c	0,50 c	0,50 c	0,00	0,67	6,00 a
ENAS 1079	0.80 a	1.02 a	0.91 a	1.13 a	1.19 a	1.19 a	1.11 a	0,00 b	0,00 b	0,17 c	0,00	2,00	3,33 b				
ENAS 1007	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,17 b	0,17 c	0,33 c	0,17 c	0,17 c	0,17 c	0,00	2,00	3,33 b
ENAS 1225	0.17 b	0.26 b	0.32 b	0.41 b	0.41 b	0.52 b	0.57 b	0,00 b	0,00 b	0,50 c	0,50 c	0,67 c	0,83 c	0,66 c	0,67	1,33	4,67 b
ENAS 1083	0.06 b	0.09 b	0.11 b	0.13 b	0.13 b	0.20 b	0.26 c	1,67 a	1,00 b	1,00 c	1,00 c	0,17 c	0,67 c	0,67 c	0,67	1,33	5,33 b
ENAS 1033	0.06 b	0.15 b	0.17 b	0.22 b	0.22 b	0.22 b	0.22 c	0,33 b	0,33 b	0,33 c	0,33 c	0,00 c	0,17 c	0,17 c	2,00	2,00	2,67 b
ENAS 1037	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,00 b	0,17 c	0,17 c	0,33 c	0,33 c	0,33 c	0,00	2,67	4,67 b
ENAS 1043	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,83 c	0,17 c	1,33	2,67	2,67 b
ENAS 1057	0.65 a	0.84 a	1.00 a	1.13 a	1.17 a	1.17 a	1.19 a	0,17 b	0,33 b	1,33 c	1,33 c	1,67 a	2,00 b	2,00 b	0,00	2,67	7,33 a
ENAS 1218	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.04 b	0.04 b	0.04 b	0.04 c	0,33 b	1,00 b	1,00 c	1,00 c	0,00 c	0,50 c	0,50 c	0,00	5,00	2,00 b

Continuação...

																	<i>Continuação...</i>
ENAS 1119	0.02 b	0.07 b	0.07 b	0.07 b	0.07 b	0.52 b	0.52 c	0.17 b	0.17 b	0.17 c	0.17c	0.16 c	0.16 c	0.16 c	0,00	4,00	5,33 b
ENAS 1147	0.24 b	0.70 a	0.59 a	0.89 a	0.87 a	0.87 a	0.91 b	2,50 a	3,00 a	3,00 b	2,83 b	3,83 a	4,33 a	3,17 b	0,00	5,33	2,67 b
ENAS 1029	0.02 b	0.00 b	0.20 b	0.24 b	0.26 b	0.26 b	0.26 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	1,00 c	1,00 c	1,00 c	0,67	3,33	6,67 a
ENAS 1026	0.00 b	0.00 c	0,17 b	0,33 b	0,33 c	0,33 c	0,17 c	0,33 c	0,33 c	1,33	3,33	6,67 a					
ENAS 1152	0.00 b	0.00 b	0.04 c	0,83 b	1,00 b	1,00 c	1,00 c	0,17 c	0,67 c	0,67 c	0,67	1,33	12,67 a				
ENAS 1143	0.57 a	0.74 a	0.96 a	1.04 a	1.06 a	1.06 a	1.19 a	0,17 b	0,67 b	0,67 c	1,33 c	2,17 a	1,83 b	2,67 b	3,33	3,33	4,00 b
ENAS 1006	0.00 b	0.00 c	0,17 b	0,33 b	0,50 c	0,50 c	0,33 c	0,33 c	0,33 c	0,00	4,00	8,67 a					
ENAS 1077	0.06 b	0.06 b	0.06 b	0.11 b	0.11 b	0.11 b	0.17 c	1,00 a	1,50 a	1,50 c	1,50 c	0,83 c	0,83 c	1,67 b	0,00	4,67	10,00 a
ENAS 1112	0.20 b	0.24 b	0.26 b	0.30 b	0.30 b	0.32 b	0.32 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,17c	0,17 c	2,67	2,67	12,00 a
ENAS 1149	0.07 b	0.16 b	0.26 b	0.28 b	0.19 b	0.19 b	0.19 c	2,00 a	2,33 a	5,67 a	5,67 a	2,50 a	3,00 b	3,17 b	3,33	0,67	16,00 a
ENAS 1111	0.09 b	0.11 b	0.09 b	0.11 b	0.13 b	0.13 b	0.13 c	0,00 b	0,00 b	0,17 c	0,17 c	0,00 c	0,00c	0,50 c	3,33	5,33	5,33 b
ENAS 1187	0.06 b	0.20 b	0.20 b	0.26 b	0.28 b	0.28 b	0.42 c	2,00 a	2,16 a	2,17 b	2,00 b	2,50 a	2,33 b	2,50 b	0,00	6,67	6,67 a
ENAS 1126	0.63 a	0.95 a	1.03 a	1.17 a	1.17 a	1.17 a	1.17 a	0,17 b	0,33 b	0,33 c	0,67c	1,33 a	1,33 c	0,83 c	0,67	7,33	8,00 a
ENAS 1127	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.02 b	0.00 b	0.00 b	0.04 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00c	0,33 c	0,50 c	0,50 c	0,00	6,00	12,67 a
ENAS 1106	1.05 a	1.11 a	1.39 a	1.54 a	1.54 a	1.54 a	1.63 a	1,33 a	1,67 a	1,67 c	2,17 b	1,33 a	1,33 a	1,33 c	1,33	6,00	12,00 a
ENAS 1136	0.87 a	1.13 a	1.29 a	1.39 a	1.43 a	1.43 a	1.46 a	2,00 a	2,00 a	2,00 c	4,00 a	1,77 a	2,67 b	2,67 b	0,00	8,00	10,00 a
ENAS 1174	0.11 b	0.22 b	0.19 b	0.26 b	0.28 b	0.28 b	0.30 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,83 c	0,83 c	0,83 c	0,67	10,00	7,33 a
ENAS 1222	0.00 b	0.02 c	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 c	0,17 c	0,33 c	0,33 c	0,00	5,33	20,67 a					
ENAS 1245	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.30 b	0.30 b	0.30 c	0,00 b	0,33 b	0,33 c	0,33 c	0,17 c	0,17 c	0,33 c	0,00	9,33	18,67 a
ENAS 1141	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.04 b	0.07 b	0.07 b	0.11 c	0,50 b	0,67 b	0,67 c	0,67 c	0,17 c	0,00 c	0,00 c	0,67	21,33	28,00 a

^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p<0,05$).

No que tange ao efeito das condições de ambiente no desenvolvimento da doença, as temperaturas máximas foram mais elevadas nos ensaios das fases 1 e 2, do que as observadas na fase 3 (Figura 17). Por outro lado, tanto a temperatura média como a mínima foi mais elevada nos dois últimos ensaios do que no primeiro. A umidade relativa máxima e mínima decresceu do primeiro para o terceiro ensaio, enquanto que a umidade relativa mínima apresentou um leve acréscimo. Com base na avaliação da severidade, pode-se inferir que as temperaturas máximas elevadas entre setembro e novembro prejudicaram o processo infeccioso e que o aumento da temperatura mínima não inibiu a infecção. Neste trabalho verificou-se que em condição *in vitro*, temperaturas de 35 e 40°C inibem o crescimento micelial do *S. solani*, conforme o apresentado no capítulo I. O efeito inibitório de altas temperaturas na colonização também foi observado por Bashi *et al.* (1973). Plantas de tomateiro inoculadas com *S. botryosum* foram expostas à 39 °C durante 12, 24, 36, 48 e 72 horas. No ensaio, houve decréscimo do número de lesões por folha na medida em que se aumentava a exposição, efeito mais pronunciado de 12 para 24 horas (aproximadamente 20 para quatro lesões por folha). Ainda, a redução da umidade relativa foi não suficiente para conter o avanço da mancha-de-estenfílio nas plantas mais velhas. Uma vez que, sob temperaturas moderadas e ambientes úmidos, o fungo causador pode fazer dois ciclos de esporos por semana (WALTER, 1967).

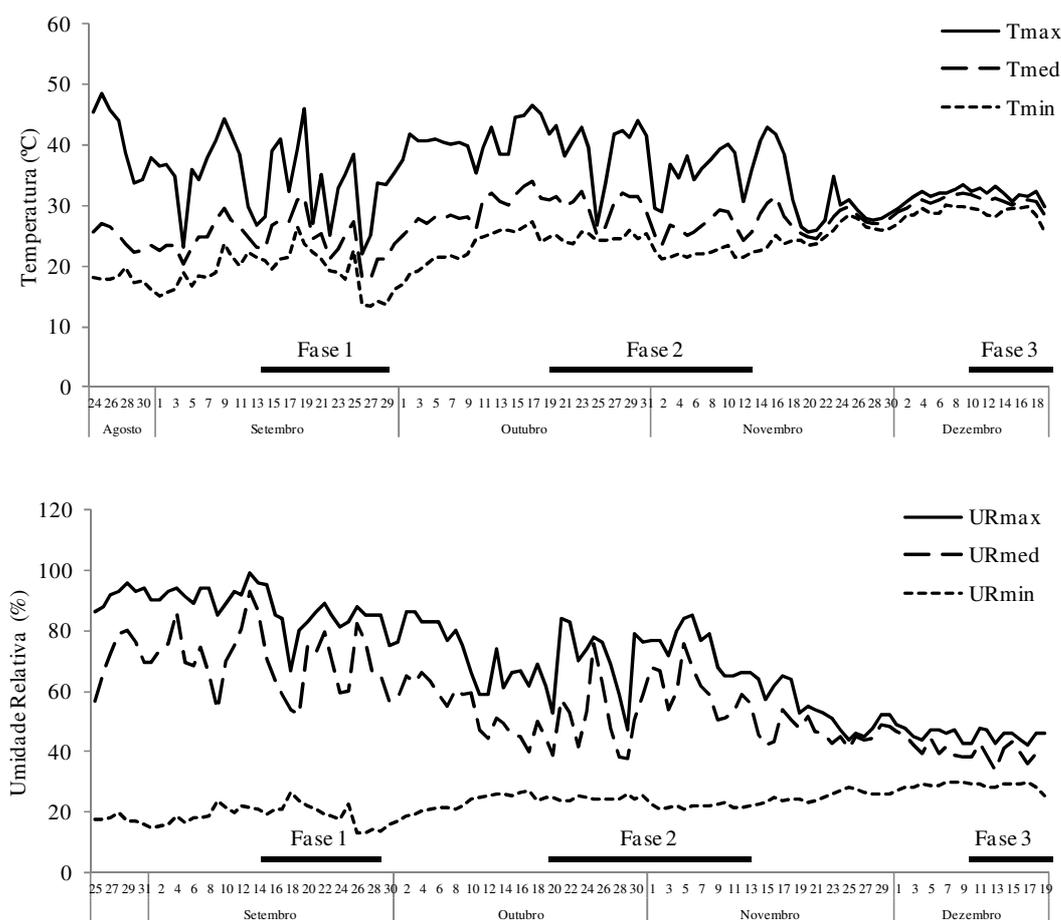


Figura 17. Variações de temperatura e umidade relativa na casa-de-vegetação durante a realização das três séries de avaliações dos genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica-RJ, 2014.

Nos três estádios avaliados os genótipos ENAS 1136 e ENAS 1143 foram classificados como suscetíveis, sendo estes selecionados como padrões de suscetibilidade à mancha-de-estenfílio. Na sequência, seis genótipos que apresentaram pouca severidade, juntamente com outros com bons aspectos agronômicos foram selecionados para serem estudados na fase posterior dos ensaios em campo. Os critérios de seleção basearam-se na suscetibilidade à mancha-de-estenfílio, aceitabilidade pelo consumidor segundo Rocha (2008) (acesso ENAS 1012 e ENAS 1031), alta produção e resistência a requeima (*Phytophthora infestans*) (acesso ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1217 e ENAS 1223) de acordo com Costa (2013)

16.2 Avaliação dos genótipos pré-selecionados quanto a resistência à mancha-de-estenfílio

Observou-se efeito significativo de genótipo em todas as variáveis avaliadas, exceto para período latente (Tabela 34). O período de incubação observado no acesso ENAS 1217 foi significativamente maior (cerca de 11 dias) que o observado em todos os demais (de 4 a 7 dias) (Tabela 35). Não houve, porém, diferença estatística entre os acessos para a duração do período latente. No entanto, os acessos usados como padrões suscetíveis (ENAS 1136 e ENAS 1143) apresentaram, em termos numéricos, menores períodos latentes (cerca de 9 e 10 dias).

Tabela 34. Análise de variância para efeito de genótipo no período de incubação e latente e do progresso da mancha-de-estenfílio em oito acessos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculados com o isolado SENA 302 de *Stemphylium solani*, avaliados em câmara de crescimento (25°C diurno e 15°C noturno, com 12 horas de fotoperíodo). Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio					
		Período		AACPD ^x	AACPNL ^x	AACPDL ^x	AACPL ^x
		Incubação	Latente				
Bloco	2	1,35	5,17	1,33	0,26	0,22	0,86
Genótipo	7	17,65*	8,22	6,39*	1,20*	2,06*	5,12*
Erro	14	3,42	3,14	1,12	0,21	0,37	0,85
CV (%)		28,96	14,08	27,12	19,89	21,09	32,12

NL.: Número médio de lesões. DL.: Diâmetro médio das lesões. L. lesão. GL.: Grau de liberdade. *Diferença estatística ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

A AACPD nos genótipos ENAS 1012 (18,24), ENAS 1031 (35,78), ENAS 1136 (29,55) e ENAS 1143 (26,54) foi estatisticamente superior à observada nos acessos ENAS 1060 (11,88), ENAS 1216 (10,81), ENAS 1217 (1,88) e ENAS 1223 (9,80) que está de acordo com os dados registrados para número das lesões e, principalmente, diâmetro das lesões (Tabela 35). AACPNL foi maior nos genótipos 1031 e 1136 e do diâmetro das lesões foi maior nos genótipos ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1136 e ENAS 1143. A princípio, pelos dados obtidos, pode-se dizer que houve mais restrição à infecção que à colonização, expressa pelo diâmetro das lesões. Ressaltando que o *S. solani* é um fungo de colonização necrotrófica (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996), os quais frequentemente, secretam toxinas, enzimas hidrolíticas degradadoras da parede celular vegetal, e proteínases para facilitar a morte da célula hospedeira (AGRIOS, 2005). Ao passo que, fungos biotróficos necessitam de células hospedeiras vivas, e de forma geral, estes crescem mais em número de lesões nas folhas do que em diâmetro de lesões.

Os resultados, em parte, diferem dos observados nos ensaios em casa-de-vegetação, onde alguns genótipos anteriormente enquadrados no agrupamento resistente comportaram-se como suscetíveis em condições controladas. Esta constatação não é incomum e muitas vezes, resultados obtidos em condições de laboratório ou de casa-de-vegetação, podem diferir daqueles obtidos em condições de campo. Sendo assim, é fundamental a comprovação dos ensaios

preliminares em condição de campo, fase esta primordial ao melhoramento genético. Pode-se também aliar à informação, a presença de resistência de campo, a qual se manifesta em determinadas condições (CAMARGO & BERGAMIN FILHO, 1995).

Entre os acessos avaliados, merece destaque o ENAS 1217 pelo maior período de incubação e menores valores de AACPS, AACPNL, AACPDL e AACPL. A resposta do ENAS 1217 à infecção da mancha-de-estenfílio deverá ser testado no campo até o fim da colheita, pois a resistência expressa na planta adulta é a mais interessante. Afinal, é nesta fase que ocorre o desenvolvimento dos maiores prejuízos à planta (BARCELLOS *et al.*, 1997). Caso o bom desempenho do ENAS 1217 persista, este poderá ser utilizado em cruzamentos futuros.

Tabela 35. Período de incubação e latente e o progresso da severidade mancha-de-estenfílio em oito genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculados com o isolado SENA 302 de *Stemphylium solani*, em câmara de crescimento (25°C diurno e 15°C noturno, com 12 horas de fotoperíodo). Seropédica-RJ, Brasil, 2014^x.

Genótipo	Período				Área Abaixo Curva de Progresso ^x							
	Incubação		Latente		Severidade		NL		DL		L	
ENAS 1012	5,00	b	13,00	ab	18,24	ab	5,12	abc	8,89	ab	7,42	abc
ENAS 1031	4,78	b	12,78	ab	35,73	a	9,05	ab	14,28	a	23,95	ab
ENAS 1060	6,56	ab	13,22	ab	11,88	ab	4,33	abc	7,78	ab	6,28	abc
ENAS 1136	4,33	b	10,66	ab	29,55	a	10,50	a	13,05	a	23,85	a
ENAS 1143	4,33	b	9,44	b	26,54	a	5,54	abc	12,71	a	13,25	abc
ENAS 1216	5,67	ab	13,22	ab	10,81	ab	3,22	abc	6,14	ab	3,69	bc
ENAS 1217	11,00	a	14,67	a	1,88	b	1,07	c	1,44	b	0,58	c
ENAS 1223	7,22	ab	12,33	ab	9,80	ab	2,90	bc	5,17	ab	3,18	c

^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$, médias seguidas letras distintas diferem-se entre si pelo teste Tukey ($p<0,05$). NL.: Número médio de lesões. DL.: Diâmetro médio das lesões. L. lesão

17. CONCLUSÕES

Avaliação inicial de genótipos de tomateiro quanto à resistência à mancha-de-estenfílio

1. Plantas adultas, foram mais suscetíveis que as plantas no estágio intermediário, e principalmente, do que as plantas mais jovens.
2. Os acessos ENAS 1136 e ENAS 1143 foram classificados como suscetíveis nos três estádios avaliados, sendo estes selecionados como padrões de suscetibilidade à mancha-de-estenfílio.
3. Não se recomenda avaliações pontuais da mancha-de estenfílio e sim avaliações continuadas e o cálculo da AACPD.
4. Os acessos ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1217 e ENAS 1223 foram selecionados para a fase posterior dos ensaios em campo.

Avaliação dos genótipos pré-selecionados quanto a resistência à mancha-de-estenfílio

5. O acesso ENAS 1217 destacou-se como o mais resistente, maior período de incubação e latente e menor severidade, número e diâmetro de lesões.
6. De acordo com a AACPL os acessos ENAS 1217 e ENAS 1223 destacaram-se como os mais promissores.

18. REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. 948p.
- ALEXOPOULOS, C. J., MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1996. 880p.
- BARCELLOS, A. L.; MORAES-FERNANDES, M. I.; ROELFS, A. P. Ferrugem da folha do trigo (*Puccinia recondita*): durabilidade da resistência. **Summa Phytopathologica**, 23: 101-111, 1997.
- BASHI, E. **Infection and Sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* on Tomatoes, and Comparisons with Other Pathogen-suscept Systems**. Ph.D. Thesis, Ramat Gan (Israel): Bar Han University, 1974.
- BASHI, E.; ROTEM, J.; PUTTER, J. Effect of wetting duration, and of other environmental factors, on the development of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes. **Phytoparasitica**, v. 1, n. 2, p. 87-94, 1973.
- BENTES, J. L. S.; MATSUOKA, K. Histologia da interação *Stemphylium solani* e tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 224-231. 2005b.
- BENTES, J. L. S.; MATSUOKA, K. Localização de peróxido de hidrogênio durante a resposta de defesa de tomateiro contra *Stemphylium solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 643-646. 2005a.
- 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**, 16, p. 280-283, 1991.
- CAMARGO, L. E. A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**, 3 ed. São Paulo, Agronômica Ceres, p. 729-758. 1995.
- COSTA, E. S. P. **Tomate do grupo cereja para cultivo orgânico e resistente à requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary**. 118f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2013.
- DIENER, U. L. A method for inducing abundant sporulation of *Stemphylium solani* in pure culture. **Phytopathology**, v. 42, n. 1, p. 7, 1952.
- DOMINGUES, D. P. **Etiologia e controle da mancha-de-estenfílo do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no estado do Rio de Janeiro**. 81f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.
- HANNON, C.; WEBER, G. F. A leaf spot of tomato caused by *Stemphylium floridanum* sp. **Phytopathology**, v. 45, p. 11-16, 1955.
- HENDRIX, J. W.; FRAZIER, W. A. Studies on the inheritance of *Stemphylium* resistance in tomatoes. **Technical Bulletin**, Honolulu: University of Hawaii, n. 8, 1949, 24p.

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.

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: Doenças das plantas cultivadas**, v. 2, São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 1997, 705 p.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de fitopatologia**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE 2001, 150p.

NETZER, D.; GLOBERSON, D.; WEINTAL, C.; ELYASSI, R. Sources and inheritance of resistance to stemphylium leaf spot of lettuce, **Euphytica**, v. 34, p. 393-396, 1985

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

REIS, A.; LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. Mancha-de-estenfílio: ressurgimento de um antigo problema do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, n. 41, 2006.

ROCHA, M. C. **Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agrônômicas, físicoquímicas e sensoriais**. 191 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal do Paraná, 2008.

ROTEM, J. Thermoxerophytic properties of *Alternaria porri* f. sp. *solani*. **Phytopathology**, v. 58, p. 1284-1287, 1968.

ROTEM, J.; BASHI, E. A review of the present status of the *Stemphylium solani* in tomato foliage. **Phytoparasitica**, n. 5, v. 1, p. 45-48, 1977.

ROTEM, J.; COHEN, Y. The relationship between mode of irrigation and severity of tomato foliage diseases in Israel. **Plant Disease Reporter**, v. 50, p. 635 – 639, 1966.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, n. 67, p. 1051-1056, 1977.

WALTER, J. M. Hereditary resistance to disease in tomato. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 5, p. 131-160, 1967.

CAPITULO IV

Progresso da mancha-de-estenfílio em diferentes genótipos de tomateiro, em condições de campo

RESUMO

A ocorrência da mancha-de-estenfílio nas lavouras de tomate fomenta os estudos com o melhoramento genético, principalmente os direcionados ao manejo orgânico. Contudo, faltam metodologias adequadas e práticas para a avaliação da doença. Neste trabalho foram avaliados no campo 10 genótipos pré-selecionados de tomateiro (no capítulo III), e o efeito da mancha-de-estenfílio na produção. A seleção considerou os genótipos promissores quanto à suscetibilidade a mancha-de-estenfílio e boa alta aceitabilidade pelo consumidor (ENAS 1012 e ENAS 1031), alta produção e resistência a requeima (*Phytophthora infestans*) (ENAS 1060, ENAS 1216, ENAS 1217 e ENAS 1223), duas testemunhas suscetíveis (ENAS 1136 e ENAS 1143), um padrão de suscetibilidade ('Perinha Água Branca') e um padrão de resistência ('Mascot'). Na safra outono/inverno, a severidade da mancha-de-estenfílio foi estimada nos três folíolos terminais de todas as folhas de uma planta por parcela, em três avaliações e foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). E ainda, em quatro plantas por parcela foram realizadas oito avaliações de severidade das 10 primeiras folhas contadas do ápice para a base. Calculou-se a AACPD, relativizada pela duração da epidemia, em cada posição da folha e por parcela. O resultado da AACPD por parcela foi relacionado com a severidade estimada em cada data de avaliação. Foram testados os modelos monomolecular, gompertz e logísticos para a severidade média e a máxima. Foram realizadas oito colheitas, uma vez por semana, determinando a) o número e a massa total de frutos por planta; b) o número e massa de frutos comercializáveis por planta; c) caracterização dos danos nos frutos. O delineamento foi o de blocos ao acaso, com oito blocos. Na avaliação da planta inteira, observou-se maior severidade nas folhas mais baixas e após a décima folha não havia diferença entre os genótipos. Na avaliação das 10 primeiras folhas da planta, verificaram-se severidades baixas nas três primeiras folhas e estas não propiciavam discriminação adequada dos genótipos. De acordo com AACPD formaram-se três grupos: os mais suscetíveis com ENAS 1223, os moderadamente suscetíveis ('Perinha Água branca', ENAS 1012, ENAS 1031, ENAS 1060, ENAS 1136, ENAS 1143 e ENAS 1216) e os menos suscetíveis (ENAS 1217 e 'Mascot'). Este mesmo resultado foi obtido quando utilizada a severidade média aos 59 dias após o transplante (DAT). Na modelagem das curvas com a severidade média e a máxima, os melhores ajustes foram obtidos com o gompertz e o logístico, respectivamente. Nestas curvas, tanto o ponto de inflexão para a severidade média, como a estabilização da curva para a severidade máxima, ocorreram aos 60 DAT. Os acessos menos produtivos, considerando o número e massa de frutos, foram os ENAS 1136 e ENAS 1217, respectivamente. A baixa massa dos frutos no ENAS 1217 está relacionada com a produção de frutos pequenos. Na safra primavera/verão segundo a metodologia obtida na safra anterior, a severidade foi estimada da quarta à décima folha contada do ápice para a base aos 59 DAT. Foram realizadas quatro colheitas e a produção foi quantificada do mesmo modo que na safra anterior. A produção foi menor no ENAS 1031. O acesso ENAS 1223 foi o mais suscetível com severidade média de 16,97% e o acesso ENAS 1217 (1,61%) indicado para programas futuros de melhoramento.

Palavras-chaves: epidemiologia; controle genético; suscetibilidade; *Stemphylium solani*, *Solanum lycopersicum*

19. INTRODUÇÃO

A mancha-de-estenfílio, causada pelos patógenos *Stemphylium solani* (WEBER, 1930) e a *S. lycopersici* (ELLIS & GIBSON, 1975), foi durante muito tempo, considerada uma doença de importância secundária na cultura do tomate (*Solanum lycopersicum*). Contudo, sob condições favoráveis e em presença de plantas suscetíveis pode causar sérias perdas à cultura (KRANZ, 1977; KUROZAWA & PAVAN, 1997). Há relatos de até 33% na redução da produção. De acordo com Boff (1988), plantas de ‘Santa Cruz Kada’, cultivadas durante outono-inverno, tutoradas verticalmente e não tratadas com fungicidas, apresentaram menor produção (1242,2 gramas por plantas), quando comparadas com as que receberam tratamento com metalaxil e mancozeb de três em três dias (1859,6 gramas por planta).

O ataque da mancha-de-estenfílio na fase de enchimento dos frutos podem reduzir drasticamente a produção. Esta situação agrava-se em lavouras orgânicas, onde a aplicação de fungicidas químicos são proibidos e as opções de controle são limitadas à práticas culturais para aeração dentro da cultura e calda bordalesa (LEAL, 2006). Neste caso, a alternativa mais viável é o controle genético por ser mais eficiente e econômico (KUROZAWA & PAVAN, 1997). Contudo, as cultivares resistentes podem se tornar suscetíveis ao longo do tempo devido às mudanças ambientais e/ou devido à evolução dos patógenos (AGRIOS, 2005). Neste caso, necessita-se de um estudo contínuo sobre o melhoramento genético, selecionando genótipos para cruzamentos e ainda, pesquisas direcionadas para a obtenção de cultivares para o manejo orgânico. Afinal uma das principais cultivares de tomate cereja plantadas no sistema orgânico, ‘Perinha Água Branca’ é suscetível à mancha-de-estenfílio.

A mancha-de-estenfílio necessita de mais estudos, principalmente de ensaios desenvolvidos em condições de clima tropical e subtropical. No entanto, um dos entraves para a condução de estudos sobre este patossistema é a falta de critérios na avaliação e amostragem da doença. Por exemplo, faltam informações sobre o número mais adequado de folíolos ou folhas e da posição destes na planta. Esta dificuldade também foi relatada por Domingues (2012) em ensaios com cultivares comerciais de tomateiro conduzidas sob manejo orgânico. De acordo com Kurosawa & Mussi (1995), a incidência da mancha-de-estenfílio é maior na porção apical, devido às folhas mais novas. Contudo, Domingues *et al.* (dados não publicados), ao avaliar a planta inteira de tomateiro quanto aos sintomas de *Stemphylium*, verificaram que as maiores severidades estavam nas folhas mais velhas. A mesma informação também foi obtida nos capítulos II e III desta tese, onde verificou-se que a infecção da mancha-de-estenfílio não está restrita a porção apical e as maiores severidade da doença ocorrem nas folhas mais velhas (baixeiras).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar no campo a infecção de *S. solani* em genótipos pré-selecionados de tomateiro (no capítulo III), e o efeito da mancha-de-estenfílio na produção de frutos além de se obter uma metodologia para a avaliação da mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro, no campo.

20. MATERIAL E MÉTODOS

O Experimento foi conduzido no Setor de Horticultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em Seropédica-RJ. Sendo o mesmo conduzido em duas safras distintas, uma destinada ao cultivo no período de temperaturas mais amenas (abril a setembro – safra outono/inverno) e outro em temperaturas mais altas (setembro a dezembro – safra primavera/verão) de 2013. O croqui do ensaio e o delineamento foram os mesmos utilizados nas duas safras

20.1 Infecção de *Stemphylium* spp em diferentes genótipos de tomateiro no campo

O experimento foi instalado em um planossolo, o clima de acordo com Köpen é classificado como do tipo Aw, com verão quente e chuvoso e inverno seco. De acordo com os dados obtidos anteriormente (capítulo III), utilizaram-se 10 genótipos de tomateiro do tipo cereja, destes seis pré-selecionados conforme algumas características desejáveis (ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1216 e ENAS 1217), duas testemunhas suscetíveis (ENAS 1136 e ENAS 1143), um como padrão suscetível ('Perinha Água Branca') e um como padrão de resistência ('Mascot'). Os critérios de seleção basearam-se resposta a infecção do *S. solani*, aceitabilidade pelo consumidor, alta produção e resistência a requeima (*Phytophthora infestans*) (Tabela 36).

A área do ensaio foi constituída por 12 linhas (destas duas foram bordaduras), contendo 41 plantas cada linha (total de 492 plantas), com espaçamento de 1,2 m entre linhas e 0,5 m entre plantas. Os blocos foram dispostos transversais as linhas de plantio, cada parcela experimental foi composta por seis plantas, sendo a primeira e última planta pertencente a cultivar 'Perinha Água Branca' e considerada bordadura. A irrigação foi realizada por gotejamento.

A semeadura do primeiro ensaio (safra outono/inverno) ocorreu em 05/04/2013, em bandejas de polipropileno com 128 células contendo a mistura na proporção 1:1 de substrato da marca Plantmax® - hortaliças e substrato orgânico, constituído por vermicomposto, carvão vegetal e torta de mamona (OLIVEIRA, 2011). Em cada célula da bandeja, foram depositadas uma a duas sementes, conforme a capacidade de germinação de cada genótipo. As mudas foram transplantadas, em covas, aos 36 dias após a semeadura, quando as mesmas atingiram dois pares de folhas verdadeiras (11/05/2013). As plantas foram transplantadas para covas, adubadas com dois litros de esterco bovino e 120 gramas de cinza. Esta mesma adubação foi aplicada na fase de colheita (12/08/2013). As plantas foram conduzidas verticalmente em uma única haste e tutoradas com fios de fitilho (início do tutoramento 10/06/2013).

A condução da planta e a desbrota foram realizados semanalmente. As capinas manuais e amontoa das plantas foram feitas quando necessário. As doenças e pragas que prejudicariam a avaliação da mancha-de-estenfílio foram controladas, aplicando: preventivo de calda bordalesa 1% (06/06/2013) para controle da requeima (*Phytophthora infestans*) e depois do surgimento da doença metalaxil-M + mancozebe (Ridomil® - dosagem de 300 gramas para 100 litros) (13/07/2013) e para oídio (*Oidium neolycopersici* e *Oidiopsis haplophylli*) pulverizou-se calda sulfocálcica 1% (11/08/2013). Após a visualização de frutos brocados, aplicou-se Dipel (*Bacillus thuringiensis*, var. *kurstaki*, linhagem HD-1) semanalmente, a partir do dia 08 de julho. Para repelir insetos aplicou-se neem (10 mL L⁻¹) no dia 11/07/2013.

Tabela 36. Genótipos testados quanto a suscetibilidade a mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), em condições de campo. Seropédica-RJ, Brasil, 2014.

Genótipos	Classe	Empresa Instituição	Nome	Origem	Critério de seleção
'Mascot'	Híbrido	Topseed	--	--	Padrão RS
'Perinha Água Branca'	Cultivar	UFRRJ	--	--	Padrão SC
ENAS 1012	Acesso	UFRRJ	Perinha vermelho	França	AC
ENAS 1031	Acesso	UFRRJ	Chadwick Cherry	EUA	AC
ENAS 1060	Acesso	UFRRJ	ES-4F	Espírito Santo	AP/RR
ENAS 1136	Acesso	UFRRJ	5G	--	Testemunha SC
ENAS 1143	Acesso	UFRRJ	--	--	Testemunha SC
ENAS 1216	Acesso	UFRRJ	IAC 401	Campinas-SP	AP/RR
ENAS 1217	Acesso	UFRRJ	IAC 400	Campinas-SP	AP/RR
ENAS 1223	Acesso	UFRRJ	IAC 395	Campinas-SP	AP/RR

ENAS.: Escola Nacional de Agronomia *Solanum*. RS.: Resistente a mancha-de-estenfílio de acordo com os ensaios do capítulo III. SC.: Suscetível a mancha-de-estenfílio de acordo com os ensaios do capítulo III. AC.: Alta aceitabilidade pelo consumidor (ROCHA, 2008). AP/RR.: Acessos com alta produção e resistentes a requeima (*Phytophthora infestans*) (COSTA, 2013).

A inoculação foi realizada aos 21 dias após o transplante (26/06/2013) em todas as plantas da bordadura ('Perinha Água Branca'), posicionadas entre as parcelas e nas duas linhas laterais. As plantas receberam a suspensão conidial por meio de aspersão até ponto de escorrimento, na concentração estabelecida no capítulo II de 10^4 conídios mL⁻¹.

A severidade foi estimada nos três folíolos terminais das 10 primeiras folhas, contadas do ápice para a base, com o auxílio da escala diagramática de Boff *et al.* (1991). As avaliações iniciaram três dias após inoculação e seguiram semanalmente, totalizando oito avaliações (28/06; 05/07; 12/07; 19/07; 26/07; 02/08; 09/08 e 16/08/2013). No intuito de se estudar a distribuição da mancha-de-estenfílio na planta e se determinar as folhas mais adequadas para quantificação da doença, realizaram-se também, a partir da terceira avaliação, quantificações quinzenais (12/07; 26/07 e 09/08) da doença em todas as folhas da planta, estimadas nos três folíolos terminais de cada folha. Nestas avaliações também foram anotadas a posição de todos os cachos florais e de frutos na planta de uma planta por parcela.

Foram realizadas oito colheitas semanais a partir do dia 25/07/2013. A produção foi avaliada considerando: a) número e massa total de frutos por planta; b) número e massa de frutos comercializáveis por planta; c) classificação dos defeitos. Na classificação dos frutos defeituosos, os mesmos foram discriminados em: frutos com ocorrência de broca-grande dos frutos (*Helicoverpa zea* Bod.), broca-pequena dos frutos (*Neoleucinodes elegantalis* Guenée); de podridão-mole (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*); de requeima; de antracnose (*Colletotrichum* spp.), frutos rachados e outros defeitos.

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso, com 10 tratamentos e oito blocos. No estudo da distribuição da mancha-de-estenfílio na planta inteira, devido a diferença entre os genótipos, as plantas não possuíam o mesmo número de folhas. Assim, considerou-se até a décima quinta folha e a partir destas os dados foram eliminados para realizar a análise estatística. Os dados foram integralizados no tempo para calcular área abaixo da curva de progresso (AACPD) (SHANER & FINNEY, 1977). A homogeneidade das variâncias dos dados foi comparada pelo teste Bartlett (ANOVA). As variáveis homogêneas foram testadas pelo F-teste e para comparação das médias adotou-se o teste Tukey ($p < 0,05$).

A severidade das 10 folhas apicais foi avaliada em quatro plantas por parcela e calculada a AACPD (SHANER & FINNEY, 1977), relativizada em função da duração da epidemia. A AACPD foi calculada por parcela (média dos dados de todas as folhas das quatro plantas da parcela) e por posição da folha na planta. A homogeneidade das variâncias dos dados da

AACPD e da produção foram comparadas pelo teste Bartlett (ANOVA). As variáveis homogêneas foram testadas pelo F-teste e para comparação das médias adotou-se o teste Tukey ($p < 0,05$).

Os dados da severidade média e da máxima, das 10 primeiras folhas contadas do ápice para base, foram transformados em índices para que os modelos não-lineares fossem ajustados aos mesmos. Para isto, foi realizada a proporção de cada severidade estimada, assumindo que 32% de severidade (nível máximo segundo a escala de Boff *et al.*, 1991), correspondia ao índice 1, ou seja 100%. Os modelos epidemiológicos testados foram: o logístico ($y = 1 / (1 + ((1/y_0) - 1) * \exp(-r * t))$), o Gompertz ($y = \exp(-(-\log(y_0)) * \exp(-r * t))$), e o monomolecular ($y = 1 - (1 - y_0) * \exp(-r * t)$), onde y era a severidade (índice) da mancha-de-estenfílio, t o tempo em dias após o transplântio, y_0 o inóculo inicial, e r a taxa de progresso da doença (BERGAMIN FILHO 1995). O modelo selecionado para a plotagem considerou o coeficiente de determinação (R^2), a distribuição residual, a variância explicada pelo modelo (VE), e o p -valor do y_0 e da r .

Para instalação do segundo ensaio, efetuou-se a semeadura no dia 12/08/2013 em bandejas de polipropileno seguindo o mesmo procedimento que a safra anterior. Anteriormente ao transplântio das mudas, na área foi cultivada crotalária (*Crotalaria juncea*), plantada na mesma época que o ensaio da safra outono/inverno e cortada na fase de máximo florescimento e na sequência incorporada ao solo. As mudas foram transplântadas, em sulcos, aos 32 dias após a semeadura, quando as mesmas atingiram dois pares de folhas verdadeiras (13/09/2013). Para a adubação utilizou-se dois litros de esterco bovino e 120 gramas de cinza, incorporados no solo. A mesma dosagem de cinza foi utilizada na fase de colheita (08/11/2013) e para adubação nitrogenada de cobertura colocou-se plantas de crotalária nas linhas de plantio (12/11/2013). Neste ensaio, adotou-se o mesmo manejo e tratamentos culturais (desbrota, condução, capina e irrigação) descrito no ensaio da safra outono/inverno.

Para controle de outras doenças e pragas que prejudicariam a avaliação da mancha-de-estenfílio, realizaram-se as seguintes pulverizações, para requeima: metalaxil-M + mancozebe (Ridomil® - dosagem de 300 gramas para 100 litros) (20/09 e 03/10/2013). Para controle de grilo aplicou-se deltamethrin (Decis® - dosagem 0.5 mL L⁻¹) (17/09/2013, devido ocorrência de chuva foi reaplicado no dia 20/09); de mosca-branca (*Bemisia tabaci*) foi pulverizado tiametoxam (actara® - dosagem 0.2 g L⁻¹) (20/09 e 29/10). Para evitar frutos brocados, aplicou-se Dipel (*Bacillus thuringiensis*, var. *kurstaki*, linhagem HD-1) semanalmente, a partir do dia 18 de outubro.

A inoculação foi realizada aos 21 dias após o transplante (04/10/2013), do mesmo modo que o ensaio anterior. A severidade foi estimada com o uso da escala diagramática de Boff *et al.* (1991), nos três folíolos terminais da folha 4 à folha 10 (contadas do ápice para a base da planta), conforme o estipulado na safra anterior. E também de acordo com a safra anterior, a avaliação da severidade foi realizada aos 59 DAT (11/11/2013).

Foram realizadas quatro colheitas (08/11; 21/11; 28/11 e 06/12/2013), a avaliação seguiu a já utilizada no ensaio anterior. Para a correlação entre a epidemia da mancha-de-estenfílio, nas duas safras, com as condições ambientais foram obtidos dados climáticos do INMET.

O delineamento experimental utilizado para os dois ensaios foi o de blocos ao acaso, com 10 tratamentos e oito blocos. Cada parcela foi constituída por quatro plantas. A homogeneidade das variâncias dos dados da severidade e da produção foi comparada pelo teste Bartlett (ANOVA). As variáveis homogêneas foram testadas pelo F-teste e para comparação das médias adotou-se o teste Tukey ($p < 0,05$).

21. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância considerando o progresso da mancha-de-estenfílio na planta inteira (15 folhas) apontou diferença estatística em todas as fontes de variação (Tabela 37).

Tabela 37. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença, segundo a posição da folha em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
Bloco	7	21,06*
Genótipo	9	168,48*
Folha	14	2230,11*
Genótipo* Folha	126	36,81*
Erro	1047	10,82
CV (%)		35,81

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

A distribuição da mancha-de-estenfílio na planta, desconsiderando o efeito do genótipo, indicou que as folhas mais velhas apresentavam severidades mais altas que as folhas mais novas (Tabela 38). As folhas 13, 14 e 15 não diferiram entre si e apresentaram maiores AACPD quando comparadas com as 10 últimas folhas emitidas. As folhas mais velhas de cada genótipo apresentaram maiores AACPD. A exceção foi o ‘Mascot’ que devido a baixa severidade não houve diferença estatística entre as posições das folhas. Quanto maior a severidade presente nas últimas folhas, as mesmas não diferiram, como no acesso ENAS 1223. Domingues *et al.* (dados não publicados), ao avaliar a planta inteira de tomateiro quanto aos sintomas de *Stemphylium*, também verificaram que as maiores severidades estavam nas folhas mais velhas, e que a porção ideal para a avaliação é até a sexta folha (contando do ápice para a base), pois esta permite a discriminação dos níveis de suscetibilidade dos genótipos.

A severidade mais alta da mancha-de-estenfílio nas folhas mais baixas da planta de tomateiro demonstra que a infecção do *S. solani* não está restrita na porção apical, conforme o relatado por Kurosawa & Mussi (1995). Alguns patógenos podem infectar as folhas em quaisquer idade ou estágio fenológico, como no caso da *Septoria albopunctata* em mirtilo (*Vaccinium ashei*) (OJIAMBO & SCHERM, 2005).

Na comparação entre os genótipos, o acesso ENAS 1223 mostrou-se o mais suscetível, exceto na última folha emitida (folha 1) não se diferenciando dos demais genótipos (Tabela 38). Entre os mais resistentes estavam o ‘Mascot’, seguido ENAS 1217. Lembrando que o acesso ENAS 1217 também se destacou no estudo realizado por Costa (2013) referente a resistência à requeima.

De acordo com o resultado observado não se recomenda a avaliação da planta inteira, pois as altas severidades das folhas a partir da décima folha não permitem a discriminação entre os genótipos. Ainda, a extensa amostragem (número de folhas avaliadas) torna o procedimento de estimativa da área lesionada cansativo, podendo prejudicar a confiabilidade dos dados. Assim, a avaliação da severidade da mancha-de-estenfílio deve ser conduzida até a décima folha.

Tabela 38. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença obtida pela severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), segundo a posição da folha (contadas do ápice para a base) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Folha	Genótipos						
	'Mascot'	'Perinha Água Branca'	ENAS 1012	ENAS 1031	ENAS 1060	ENAS 1136	Média
1	0,00 A a	0,00 A i	0,00 A f	0,00 A g	0,58 A g	1,17 A g	3,67 l
2	0,00 A a	0,00 A i	0,00 A f	1,75 A g	7,00 A g	4,67 A fg	6,76 l
3	0,00 B a	3,50 B hi	2,33 B f	7,00 B g	17,50 AB fg	16,92 AB efg	15,98 kl
4	0,00 B a	9,91 B ghi	11,66 B ef	15,17 B fg	32,08 AB efg	26,83 AB defg	28,00 jk
5	0,00 C a	19,25 BC fghi	15,75 BC ef	22,75 BC efg	42,00 BC defg	60,67 C def	46,14 ij
6	0,00 D a	39,67 BCD fghi	39,66 BCD def	37,33 BCD efg	60,66 BC cdef	90,41 AB cde	63,87 hi
7	0,00 D a	48,41 BC fgh	59,50 BC de	68,25 BC def	68,24 BC cdef	120,75B bcd	85,87 gh
8	0,58 D a	74,67 C defg	68,25 C de	91,58 BC cde	100,91 BC bcd	202,42 AB abc	119,76 fg
9	0,00 E a	89,83 CD cdef	92,17 CD cd	155,75 BC bcd	136,50 BCD abcd	243,25 AB ab	149,45 ef
10	1,17 E a	132,42 CD bcde	146,42 BCD cd	210,00 BC abc	162,75 BCD abc	266,00 B a	189,41 de
11	2,92 D a	181,48 BC abcd	217,00 B bcd	248,50 B ab	203,58 B ab	285,83B ab	221,06 cd
12	1,75 D a	233,85 B abc	246,75 B ab	285,83 B ab	218,75 B ab	314,42 B a	249,35 bc
13	1,75 D a	227,11BC ab	316,17 B a	324,33 B a	268,33 B a	330,17 AB a	273,14 abc
14	2,33 D a	263,41 B ab	345,91 AB a	354,08 AB a	281,17 B a	340,08 AB a	290,43 ab
15	4,08 D a	313,83 B a	404,83 AB a	389,08 AB a	283,50 BC a	343,00 B a	313,72 a
	1,09 E	112,94 C	131,09 C	147,43 C	125,57 C	176,44 B	
		ENAS 1143	ENAS 1216	ENAS 1217	ENAS 1223		
1		1,17 A i	0,00 A i	0,00 A g	33,83 A a		
2		1,16 A i	1,17 A hi	0,00 A g	51,91 A ab		
3		5,25 B hi	6,42 B hi	1,16 B fg	99,75 A abc		
4		15,16 B ghi	22,75 B ghi	1,75 B fg	144,67 A bcd		
5		34,41 BC fghi	41,42 BC fghi	4,67 C efg	220,50 A bcde		
6		55,41 BC fgh	56,58 BC efg	9,92 CD defg	247,33 A cde		

Continuação...

Continuação...

7	72,91 BC efg	82,25 BC defg	16,33 CD cdefg	322,00 A bcd
8	106,75 BC def	98,00 BC cdef	29,75 CD bcdefg	424,67 A abc
9	127,17 BCD cdef	124,83 BCD bcdef	51,91 D abcdefg	473,08 A ab
10	174,42 BC bcde	158,67 BCD abcde	61,83 D abcdef	560,58 A a
11	243,25 B abcd	193,67 BC abcd	71,16 C abcde	588,00 A a
12	274,75 B abc	228,08 B abc	83,99 C abcd	607,25 A a
13	312,67 B ab	225,17 BC ab	113,17 C abc	608,42 A a
14	337,75 B ab	252,58 BC ab	118,42 C ab	609,00 A a
15	391,41 AB a	256,67 BC a	140,00 D ab	623,58 Aa
	143,58 C	116,55 C	46,94 D	374,30 A

^aMédias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$). Maiúsculas referem-se a comparação entre genótipos (colunas) e minúsculas entre posição da folha (linhas).

Na safra outono/inverno, o progresso da mancha-de-estenfílio em função da altura de 10 folhas de tomateiro apresentou efeito significativo em todas as fontes de variação (Tabela 39).

Tabela 39. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio, expressa pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) relativizada pela duração da epidemia, segundo a posição da folha em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
Bloco	7	0,59*
Genótipo	9	13,99*
Folha	9	27,03*
Genótipo*folha	81	0,45*
Erro	693	0,09
CV (%)		16,58

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

Na comparação entre os genótipos, independente da folha avaliada o acesso ENAS 1223 foi o mais suscetível (Tabela 40). Os demais genótipos diferiram entre si somente após a folha 3. A AACPD na folha 4 foi menor no ‘Mascot’ diferindo estatisticamente do acesso ENAS 1060 e ENAS 1223. Na folha 5, a menor AACPD foi verificada no ‘Mascot’, quando comparada ao ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1136; ENAS 1143; ENAS 1216 e ENAS 1223. A menor AACPD na folha 6 e 7 foi observada no ‘Mascot’ diferindo dos demais genótipos, exceto do ENAS 1217. Na folha 8 e 9, o ‘Mascot’ apresentou menor AACPD, seguido do ENAS 1217, diferindo dos demais genótipos. Na folha 10, os genótipos mais suscetíveis, maior AACPD, foram ‘Perinha Água Branca’, ENAS 1012, ENAS 1031, ENAS 1060, ENAS 1136, ENAS 1143, ENAS 1216 e ENAS 1223. O menos suscetível foi o ‘Mascot’, seguido do ENAS 1217.

Ao comparar a AACPD de cada folha em função da sua posição em um mesmo genótipo, não houve diferenças estatísticas entre as mesmas no ‘Mascot’ (Tabela 40). Este resultado pode estar aliado à baixa severidade estimada neste genótipo. Enquanto nos demais genótipos, as folhas mais baixas apresentaram maior AACPD, a qual foi diminuindo quanto mais jovem era o órgão avaliado (Tabela 40). Domingues (2012) também descreveu que os sintomas, 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.

Haja visto os resultados obtidos, não se preconiza a avaliação da mancha-de-estenfílio nas três primeiras folhas apicais, devido a baixa severidade da doença. A avaliação da mancha-de-estenfílio em tomateiro deve-se restringir a porção mediana entre a quarta e décima folha contada do ápice para a base. Contrariando, as informações de Kurosawa & Mussi (1995) sobre a doença afetar principalmente a porção apical.

Tabela 40. Progresso da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*), expresso por Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) relativizada pela duração da epidemia, segundo a posição de 10 folhas (contadas do ápice para a base), em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

FL	Genótipos									
	'Mascot'	PAB	ENAS 1012	ENAS 1031	ENAS 1060	ENAS 1136	ENAS 1143	ENAS 1216	ENAS 1217	ENAS 1223
1	0,00 B a	0,06 B f	0,01 B g	0,00 B g	0,13 B f	0,05 B f	0,00 B g	0,09 B f	0,02 B d	1,75 A f
2	0,01 B a	0,07 B f	0,10 B fg	0,11 B g	0,37 B f	0,25 B f	0,11 B g	0,27 B f	0,01 B d	3,11 A ef
3	0,03 B a	0,27 B f	0,30 B fg	0,34 B fg	0,76 B ef	0,55 B f	0,48 B fg	0,61 B ef	0,06 B d	4,23 A de
4	0,04 C a	0,60 BC ef	0,74 BC efg	0,70 BC efg	1,32 B fg	1,09 BC ef	1,04 BC ef	1,19 BC ef	0,18 BC d	5,53 A cd
5	0,04 D a	1,09 BCD ef	1,25 BC ef	1,35 BC def	1,88 B ef	2,15 B de	1,52 BC ef	1,88 B de	0,40 CD cd	6,39 A cd
6	0,07 D a	1,86 BC de	2,15 B de	2,03 BC de	2,79 B de	3,26 B cd	2,43 B de	2,96 B cd	0,65 CD bcd	7,04 A c
7	0,08 D a	2,70 C cd	3,00 BC cd	3,00 BC cd	3,86 BC cd	4,96 AB bc	3,33 BC cd	4,33 BC bc	1,04 D bcd	7,40 A bc
8	0,22 E a	3,75 C bc	4,27 BC bc	4,71 BC bc	4,94 BC bc	6,28 B ab	4,69 BC bc	5,62 BC ab	1,54 D abc	10,19 A ab
9	0,36 D a	5,53 B ab	5,59 B ab	6,72 B ab	6,33 B ab	7,39 B ab	6,62 B ab	6,77 B ab	2,11 C ab	10,74 A a
10	0,33 C a	7,58 A a	7,80 A a	8,35 A a	7,62 A a	9,00 A a	8,78 A a	8,02 A a	2,69 B a	10,68 A a

^xMédias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$). Maiúsculas referem-se a comparação entre genótipos (colunas) e minúsculas entre posição da folha (linhas). PAB.: 'Perinha Água Branca'.

A Análise de variância, considerando a AACPD por parcela, apontou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os genótipos (Tabela 41). Foram observadas diferenças significativas também entre genótipos e blocos para produção total e a produção comercial.

Tabela 41. Análise de variância da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) relativizada pela duração da epidemia da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) e produção de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Fonte de variação	GL	AACPD relativa	Produção total		Produção Comercial	
			Massa	Número	Massa	Número
Bloco	7	0,07	48,78*	3,01*	32,52	1,91*
Genótipo	9	1,64*	81,45*	4,74*	73,49*	3,69*
Erro	63	0,06	17,94	1,03	15,35	0,81
CV (%)		12,86	16,91	15,14	17,40	15,11

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

A maior AACPD foi encontrada no acesso ENAS 1223 (6,71), o qual diferenciou dos demais (Tabela 42). As menores AACPD foram verificadas em ‘Mascot’ (0,12) e ENAS 1217 (0,87). Segundo o teste Tukey, foram formados três grupos: mais suscetível (ENAS 1223); moderadamente suscetível (‘Perinha Água Branca’; ENAS 1012; ENAS 1031; ENAS 1060; ENAS 1136; ENAS 1143 e ENAS 1216) e os menos suscetíveis (‘Mascot’ e ENAS 1217). Uma hipótese a ser levantada, é a relação entre a alta suscetibilidade à mancha-de-estenfílio do ENAS 1223 com sua altura. Este acesso possui uma menor altura e com isso, as folhas mais jovens podem estar em um microclima mais favorável ao desenvolvimento da doença e ainda, a proximidade do solo pode contribuir como fonte de inóculo, uma vez que o fungo pode sobreviver em restos culturais no solo (REIS & BOITEUX, 2006).

O acesso ENAS 1217 apresentou menor massa de frutos colhidos (330,19 g), quando comparado Mascot, ENAS 1012, ENAS 1031, ENAS 1060 e ENAS 1143, respectivamente, 738,41; 734,05; 820,39; 820,39; 846,35 e 740,98 g por planta (Tabela 42). O acesso mais produtivo, considerando número de frutos por planta, foi o ENAS 1216 (65,98), o qual diferiu estatisticamente dos genótipos Perinha Água Branca (35,41), ENAS 1031 (36,10), ENAS 1136 (34,24) e ENAS 1223 (37,87). Rocha (2008) obteve maior produtividade ao testar os acessos ENAS 1031 e ENAS 1012, os quais apresentaram maior massa (820 e 1400 g para ENAS 1012 e ENAS 1031, respectivamente) e número de frutos por planta (58 e 65 frutos para ENAS 1012 e ENAS 1031, respectivamente) no somatório de sete colheitas. A produtividade dos genótipos testados foi maior que a verificada por Costa (2013) para ENAS 1060 (271,31 g e 21,26 frutos); ENAS 1136 (279,91 e 19,87 frutos); Perinha Água Branca (314,83 g e 32 frutos); ENAS 1143 (327,03 g e 7,36 frutos); ENAS 1217 (359,56 e 67,13 frutos) e ENAS 1223 (47,77 g e 7,2 frutos), em oito colheitas. Contudo, o autor não realizou o controle da requeima, pois seu objetivo era selecionar genótipos resistentes à esta doença. Na safra seguinte de outono/inverno, não houve ocorrência de requeima devido a ausência de condições favoráveis ao desenvolvimento da mesma, assim a produtividade encontrada por Costa (2013) foi maior que o ensaio anterior: ENAS 1060 (1011,72 g e 58,9 frutos); ENAS 1216 (891,50 g e 85,7 frutos); ‘Perinha Água Branca’ (770,56 g e 77,95 frutos) e ENAS 1217 (563,79 g e 68,2 frutos), em seis colheitas.

O número comercial de frutos foi maior no ‘Mascot’ (54,95), quando comparado aos genótipos ‘Perinha Água Branca’ (32,22); ENAS 1012 (29,85); ENAS 1031 (30,43); ENAS 1136 (27,24) e ENAS 1223 (32,57) (Tabela 42). A maior massa comercial foi observada nos genótipos ‘Mascot’ (629,38 g); ‘Perinha Água Branca’ (513,98 g); ENAS 1031 (697,16 g);

ENAS 1060 (635,50 g); ENAS 1136 (593,23 g) e ENAS 1143 (534,05 g), do que acesso ENAS 1217 (258,27 g). Para Rocha, o acesso ENAS 1031, conduzido na safra outono/inverno, foi mais produtivo comercialmente com 1220 g e 56 fruto por planta. No entanto, a produtividade comercial do ENAS 1012 foi similar ao observado neste ensaio, com 410 g e 29 frutos por planta.

Tabela 42. Progresso da mancha-de-estênfilo, expresso por Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) – relativizada pela duração da epidemia e dados da produção (massa em grama e número de frutos por planta) de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), inoculados com o isolado SENA 302 de *Stemphylium solani*, em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Genótipo	AACPD relativa	Número de frutos		Massa de frutos (g)	
		Total	Comercial	Total	Comercial
‘Mascot’	0,12 c	59,25 ab	54,95 a	738,41 a	692,38 a
‘Perinha Água Branca’	2,35 b	35,41 bc	32,22 bc	557,56 ab	513,98 a
ENAS 1012	2,52 b	50,44 abc	29,85 bc	734,05 a	439,56 ab
ENAS 1031	2,73 b	36,10 bc	30,43 bc	820,39 a	697,16 a
ENAS 1060	3,00 b	47,28 abc	34,92 abc	846,35 a	635,50 a
ENAS 1136	3,40 b	34,24 c	27,24 c	740,98 a	593,23 a
ENAS 1143	2,90 b	42,52 abc	35,44 abc	636,74 ab	534,05 a
ENAS 1216	3,18 b	65,98 a	48,13 ab	580,11 ab	439,90 ab
ENAS 1217	0,87 c	46,80 abc	34,99 abc	330,19 b	258,27 b
ENAS 1223	6,71 a	37,87 bc	32,57 bc	550,17 ab	486,22 ab

^x Médias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$). Dados referentes a somatória de oito colheitas.

A análise de variância para os defeitos encontrados nos frutos colhidos apontou diferença estatística entre genótipos para danos por broca pequena e requeima e entre genótipos e blocos para danos por rachadura e podridão mole (Tabela 43). E também houve diferença estatística entre os tipos de danos ocorridos nos frutos para todos os genótipos testados, e entre blocos nos acessos ENAS 1031 e ENAS 1136 (Tabela 44).

Tabela 43. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		Broca		Rachados	Podridão mole ^y	Requeima ^z	Outros
		Grande ^x	Pequena ^w				
Bloco	7	0,01	0,10	1,59*	0,22*	0,03	0,01
Genótipo	9	0,01	0,35*	6,95*	0,55*	0,06*	0,01
Erro	63	0,01	0,09	0,62	0,10	0,02	0,01
CV (%)		9,82	20,94	31,68	20,32	13,98	7,37

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. Dados obtidos pela somatório de oito colheitas. ^w*Helicoverpa zea* Bod. ^w*Neoleucinodes elegantalis* Guenée. ^y*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. ^z*Phytophthora infestans*.

Tabela 44. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio									
		MAS	PAB	ENAS 1012	ENAS 1031	ENAS 1060	ENAS 1136	ENAS 1143	ENAS 1216	ENAS 1217	ENAS 1223
Bloco	7	0,06	0,08	0,15	0,21*	0,45	0,24*	0,22	0,51	0,23	0,16
Danos	5	0,41*	0,43*	10,78*	1,21*	4,49*	1,27*	1,56*	8,72*	6,17*	1,55*
Erro	63	0,05	0,04	0,18	0,06	0,25	0,07	0,3	0,40	0,12	0,16
CV (%)		18,28	16,73	22,93	18,46	31,87	18,44	26,09	38,53	23,09	32,26

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. Dados obtidos pela somatório de oito colheitas. MAS: 'Mascot'. PAB: 'Perinha Água Branca'

Não houve diferença estatística entre os genótipos quanto aos danos causados por broca grande, requeima e outras causas não discriminadas (Tabela 45). Já os danos causados por broca pequena foram maiores no ENAS 1012, quando comparados com o 'Mascot', ENAS 1217 e ENAS 1223. A ocorrência de podridão mole foi maior nos frutos do ENAS 1012, do que nos frutos do 'Mascot', 'Perinha Água Branca', ENAS 1217 e ENAS 1223. O número de frutos rachados foi menor no 'Mascot' e 'Perinha Água Branca', quando comparados com ENAS 1012, ENAS 1060, ENAS 1216 e ENAS 1217.

A principal causa de danos nos frutos de 'Mascot' foi a rachadura, em relação à broca grande, a requeima e outros danos (Tabela 45). Para 'Perinha Água Branca' houve mais frutos com podridão mole e broca pequena, do que frutos com broca grande, requeima e outros. Danos por rachadura foram maiores no ENAS 1012; ENAS 1060; ENAS 1216; ENAS 1217 e ENAS 1223 do que as demais causas. Os frutos colhidos do ENAS 1031 apresentaram mais danos por broca pequena, podridão mole e rachadura. O número de frutos com podridão mole e rachados foi maior do que o número de frutos com broca grande, requeima e outros danos, para ENAS 1143. A ocorrência de frutos rachados pode estar relacionada com o volume de chuvas (~ 80 mm) que ocorreram no período da colheita (25/07 a 11/09/2013), conforme o apresentado na figura 18.

Rocha (2008) testou a divergência genética de 19 acessos de tomateiro, entre eles o ENAS 1012, ENAS 1031 e a cultivar 'Perinha Água Branca'. Segundo a autora, houve a formação de quatro agrupamentos, o grupo dos genótipos 'Perinha Água Branca' e ENAS 1012 apresentaram alta incidência de frutos com podridão-mole (causada por *P. carotovorum* subsp. *Carotovorum*), antracnose (causada por *Colletotrichum* spp.), anomalia fisiológica (frutos rachados e passados) e ocorrência de broca-grande (*H. zea*). E o agrupamento onde estava o ENAS 1031 apresentaram frutos deformados.

Tabela 45. Número de frutos com defeitos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Genótipo	Broca						Podridão mole ^y	Rachados	Requeima ^z	Outros								
	Grande ^x		Pequena ^w															
‘Mascot’	0,03	C	a	0,70	ABC	b	0,99	AB	cd	1,61	A	d	0,55	BC	a	0,00	C	a
‘Perinha Água Branca’	0,10	BC	a	1,21	A	ab	1,31	A	bcd	0,86	AB	d	0,00	C	a	0,00	C	a
ENAS 1012	0,16	C	a	2,64	B	a	3,14	B	a	15,95	A	a	0,12	C	a	0,00	C	a
ENAS 1031	0,09	B	a	1,81	A	ab	1,64	A	abcd	2,87	A	cd	0,09	B	a	0,00	B	a
ENAS 1060	0,06	B	a	1,37	B	ab	1,75	B	abcd	9,28	A	abc	0,50	B	a	0,12	B	a
ENAS 1136	0,00	D	a	1,19	BC	ab	1,96	AB	abc	3,26	A	bcd	0,47	CD	a	0,16	CD	a
ENAS 1143	0,16	B	a	1,11	AB	ab	2,83	A	ab	3,36	A	cd	0,03	B	a	0,03	B	a
ENAS 1216	0,25	B	a	1,28	B	ab	1,50	B	abcd	14,82	A	a	0,00	B	a	0,00	B	a
ENAS 1217	0,00	B	a	0,56	B	b	1,06	B	bcd	10,13	A	ab	0,16	B	a	0,00	B	a
ENAS 1223	0,00	B	a	0,45	B	b	0,25	B	d	4,29	A	bcd	0,06	B	a	0,00	B	a

^xMédias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$), letras maiúsculas para comparação entre defeitos (entre colunas) e minúsculas entre genótipos (na mesma coluna). Dados por planta, referentes a somatória das oito colheitas. ^x*Helicoverpa zea* Bod. ^w*Neoleucinodes elegantalis* Guenée.

^y*Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*. ^z*Phytophthora infestans*.

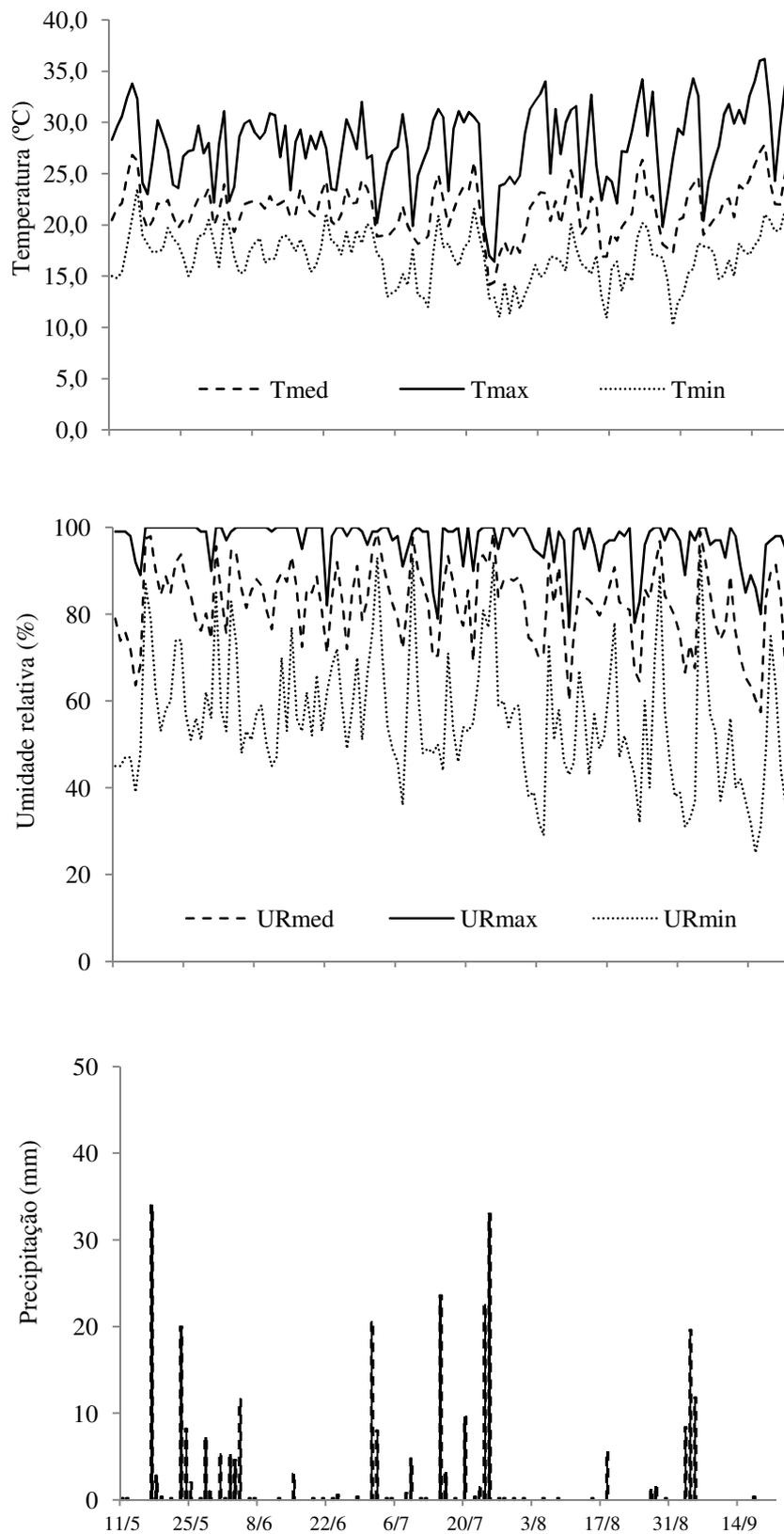


Figura 18. Dados Climáticos obtidos da estação metereológica do INMET localizada no município de Seropédica-RJ, durante o cultivo da safra outono/inverno 2014.

A modelagem matemática das curvas de progresso da severidade média da mancha-de-estenfílio constam na tabela 46 e na figura 19. O modelo selecionado considerando o p -valor de y_0 e r , o R^2 e a VE, foi o modelo Gompertz para todos os genótipos, exceto para os acessos ENAS 1012 e ENAS 1217, os quais apresentaram melhor ajuste quando aplicado o modelo Logístico (Figura 19). O maior incremento na severidade foi observado aos 60 DAT (10/07/2013) para todos os genótipos (ponto de inflexão da curva). Temperaturas médias entre 20 a 25°C neste período podem ter contribuído para o progresso da doença (Figura 18). E ainda, a presença de temperaturas mínimas próximas a 15°C podem ter favorecido a esporulação, conforme o verificado no capítulo I, esta temperatura foi a mais propícia para a esporulação *in vitro*.

A severidade média apresentou valores baixos na maioria dos genótipos, sendo que a curva epidemiológica assumiu valores próximos ao índice de 0,6, equivalente a 19,2% de severidade segundo a escala de Boff *et al.* (1991), somente ao final das avaliações (73 DAT) no acesso ENAS 1223. Domingues (2012), em um ensaio conduzido de outubro a novembro, avaliou 10 cultivares comerciais, destas apenas quatro cultivares ('Serato', 'Lumi', 'Carmem' e 'Perinha Água Branca') apresentaram severidade média superior a 5% ao fim das avaliações (64 DAT). Rocha (2008) verificou a estabilização do progresso da mancha-de-estenfílio aos 72 DAT, em meados de outubro.

Os dados epidemiológicos da curva de progresso da severidade máxima estão apresentados na tabela 47 e na figura 20. O modelo logístico foi o que melhor se ajustou à severidade máxima para todos os genótipos, exceto ao 'Mascot'. O ajuste do 'Mascot' ao modelo Gompertz pode estar relacionado com a baixa severidade. O ponto de inflexão iniciou-se aos 40 DAT e a estabilização da curva ocorreu aos 60 DAT, exceto para ENAS 1223. Neste acesso a epidemia foi mais precoce, com estabilização da curva aos 40 DAT; além de apresentar maior y_0 e r .

Tabela 46. Modelagem epidemiológica com a severidade média da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica-RJ, 2014

Modelos	Genótipos de tomateiro																				
	ENAS 1012		ENAS 1031		ENAS 1060		ENAS 1136		ENAS 1143		ENAS 1216		ENAS 1217		ENAS 1223		Mascot		Perinha		
	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	y_0	r	
Gompertz	Estimativa	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,04	0,00	0,01	0,00	0,02		
	Erro padrão	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01		
	t (6)	0,46	3,12	0,39	2,72	0,39	3,86	0,42	6,85	0,41	6,74	0,19	2,89	0,19	2,89	0,24	4,73	0,55	2,57	0,34	3,51
	-95%CL	-0,01	0,00	-0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01
	+95%CL	0,01	0,03	0,01	0,03	0,01	0,04	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,06	0,00	0,02	0,00	0,04
	p-valor	0,66	0,02	0,71	0,03	0,71	0,01	0,69	0,00	0,69	0,00	0,85	0,03	0,85	0,03	0,82	0,00	0,60	0,04	0,74	0,01
	R ²	0,84		0,81		0,90		0,94		0,94		0,91		0,91		0,96		0,82		0,89	
VE (%)	71,44		65,25		81,37		89,11		86,22		82,09		82,09		92,69		67,63		78,80		
Monomolecular	Estimativa	0,01	0,04	0,01	0,04	0,01	0,05	0,01	0,06	0,01	0,05	0,00	0,06	0,01	0,03	0,01	0,07	0,00	0,04	0,00	0,05
	Erro padrão	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,02	0,00	0,02
	t (6)	1,06	2,96	0,93	2,59	1,12	3,66	1,12	4,53	1,30	4,35	0,87	3,49	1,74	3,58	1,34	5,25	0,89	2,64	0,95	3,33
	-95%CL	-0,01	0,01	-0,01	0,00	-0,01	0,02	-0,01	0,03	-0,01	0,02	-0,01	0,02	0,00	0,01	-0,01	0,03	0,00	0,00	-0,01	0,01
	+95%CL	0,03	0,08	0,03	0,08	0,03	0,08	0,02	0,10	0,02	0,08	0,02	0,10	0,01	0,05	0,03	0,10	0,00	0,09	0,02	0,09
	p-valor	0,33	0,03	0,39	0,04	0,30	0,01	0,31	0,00	0,24	0,00	0,42	0,01	0,13	0,01	0,23	0,00	0,41	0,04	0,38	0,02
	R ²	0,83		0,79		0,89		0,93		0,92		0,89		0,86		0,95		0,81		0,88	
VE (%)	68,64		62,13		78,45		87,01		84,83		79,86		74,31		89,56		66,33		76,97		
Logístico	Estimativa	-0,09	0,00	-0,10	0,00	-0,15	0,01	-0,22	0,01	-0,12	0,00	-0,17	0,01	-0,02	0,00	-0,50	0,01	0,00	0,00	-0,11	0,00
	Erro padrão	0,05	0,00	0,06	0,00	0,06	0,00	0,08	0,00	0,05	0,00	0,07	0,00	0,01	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
	t (6)	-1,82	3,74	-1,65	3,33	-2,34	4,54	-2,65	4,91	-2,41	4,81	-2,38	4,25	-1,91	4,92	-3,44	6,69	-0,30	1,72	-2,14	4,02
	-95%CL	-0,22	0,00	-0,26	0,00	-0,30	0,00	-0,43	0,00	-0,25	0,00	-0,35	0,00	-0,05	0,00	-0,86	0,01	-0,01	0,00	-0,23	0,00
	+95%CL	0,03	0,01	0,05	0,01	0,01	0,01	-0,02	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	-0,14	0,02	0,01	0,00	0,02	0,01	
	p-valor	0,12	0,01	0,15	0,02	0,06	0,00	0,04	0,00	0,05	0,00	0,06	0,01	0,10	0,00	0,01	0,00	0,77	0,14	0,08	0,01
	R ²	0,84		0,81		0,88		0,89		0,89		0,87		0,89		0,94		0,74		0,85	
VE (%)	70,21		65,19		77,75		80,49		75,60		75,36		80,15		89,01		54,63		73,15		

y_0 : inóculo inicial. r : taxa de progresso. R²: Coeficiente de determinação. VE: Variância explicada.

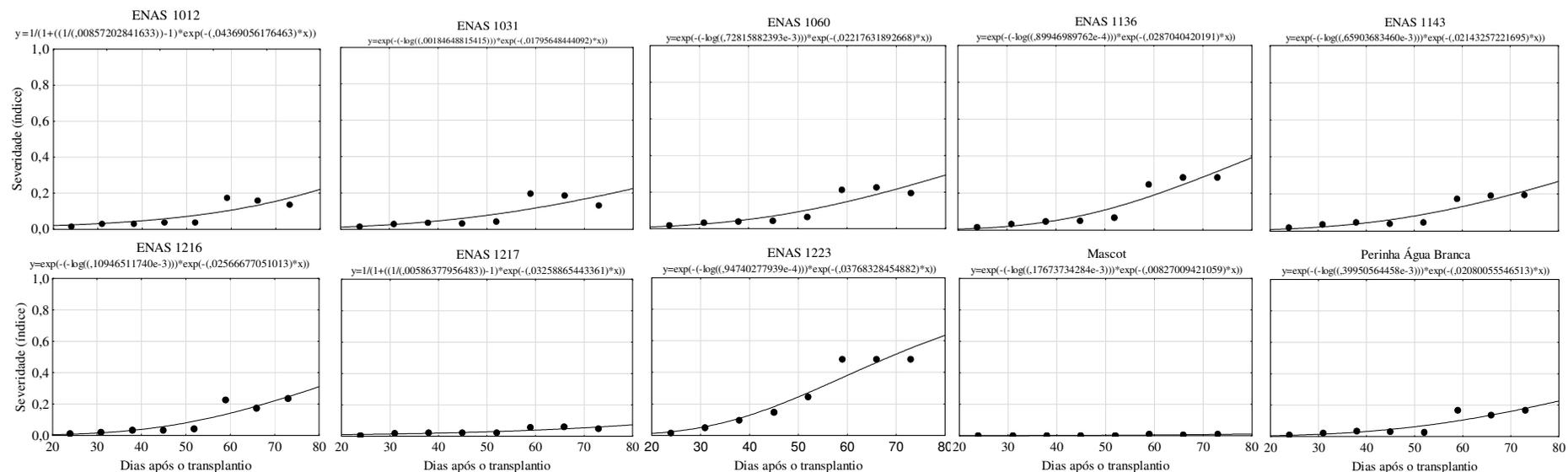


Figura 19. Severidade média (índice) da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), Seropédica-RJ, 2014. Linhas indicam os modelos ajustados aos dados (pontos), obtidos da média de 10 folhas por planta (32 plantas avaliadas por genótipo).

Tabela 47. Modelagem epidemiológica com a severidade máxima da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Seropédica-RJ, 2014

Modelos	Genótipos de tomateiro																				
	ENAS 1012		ENAS 1031		ENAS 1060		ENAS 1136		ENAS 1143		ENAS 1216		ENAS 1217		ENAS 1223		Mascot		Perinha		
	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	y ₀	r	
Gompertz	Estimativa	0,00	0,06	0,00	0,06	0,00	0,06	0,00	0,06	0,02	0,05	0,00	0,06	0,00	0,03	0,01	0,09	0,00	0,02	0,00	0,06
	Erro padrão	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,01	0,06	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,06	0,05	0,00	0,01	0,00	0,01
	t (6)	0,36	8,69	0,28	6,82	0,11	2,62	0,32	7,59	0,29	2,36	0,17	5,53	0,34	2,96	0,16	1,99	0,21	2,12	0,12	4,02
	-95%CL	0,00	0,05	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,04	-0,14	0,00	0,00	0,03	-0,03	0,01	-0,14	-0,02	-0,01	0,00	0,00	0,02
	+95%CL	0,00	0,08	0,00	0,08	0,00	0,12	0,00	0,08	0,18	0,10	0,00	0,09	0,04	0,05	0,16	0,20	0,01	0,05	0,00	0,09
	p-valor	0,73	0,00	0,79	0,00	0,92	0,04	0,76	0,00	0,78	0,06	0,87	0,00	0,74	0,03	0,88	0,09	0,84	0,08	0,91	0,01
	R ²	0,89		0,87		0,84		0,87		0,77		0,93		0,84		0,74		0,74		0,85	
	VE (%)	80,31		75,04		71,96		75,31		59,21		86,01		70,51		55,55		55,28		73,01	
Monomolecular	Estimativa	-1,38	0,04	-1,29	0,04	-1,22	0,04	-2,00	0,05	-0,88	0,04	-1,68	0,04	-0,26	0,01	-1,50	0,08	-0,21	0,01	-1,28	0,03
	Erro padrão	0,95	0,01	0,98	0,01	1,09	0,01	1,51	0,02	1,10	0,02	0,95	0,01	0,21	0,00	2,78	0,04	0,16	0,00	1,01	0,01
	t (6)	-1,46	3,46	-1,32	3,10	-1,12	2,88	-1,33	3,06	-0,80	2,35	-1,78	3,98	-1,24	3,23	-0,54	1,96	-1,32	2,62	-1,27	2,81
	-95%CL	-3,70	0,01	-3,68	0,01	-3,88	0,01	-5,68	0,01	-3,58	0,00	-4,01	0,02	-0,78	0,00	-8,30	-0,02	-0,60	0,00	-3,74	0,00
	+95%CL	0,94	0,07	1,10	0,07	1,45	0,08	1,69	0,08	1,82	0,08	0,64	0,07	0,26	0,02	5,30	0,17	0,18	0,01	1,19	0,06
	p-valor	0,20	0,01	0,23	0,02	0,31	0,03	0,23	0,02	0,46	0,06	0,13	0,01	0,26	0,02	0,61	0,10	0,24	0,04	0,25	0,03
	R ²	0,86		0,83		0,81		0,84		0,77		0,89		0,80		0,73		0,73		0,79	
	VE (%)	74,06		69,16		66,36		70,30		58,82		79,24		64,82		74,06		54,08		63,44	
Logístico	Estimativa	0,01	0,11	0,01	0,10	0,02	0,10	0,00	0,19	0,09	0,06	0,00	0,13	0,00	0,13	0,10	0,11	0,01	0,05	0,00	0,17
	Erro padrão	0,01	0,03	0,02	0,04	0,03	0,04	0,00	0,09	0,10	0,03	0,00	0,04	0,00	0,04	0,15	0,05	0,02	0,02	0,00	0,25
	t (6)	0,62	3,15	0,51	2,63	0,59	2,60	0,23	2,11	0,93	2,37	0,58	3,66	0,58	3,66	0,65	1,97	0,68	2,09	0,07	0,67
	-95%CL	-0,03	0,02	-0,03	0,01	-0,06	0,01	0,00	-0,03	-0,15	0,00	-0,01	0,04	-0,01	0,04	-0,26	-0,03	-0,03	-0,01	-0,01	-0,45
	+95%CL	0,05	0,19	0,05	0,20	0,09	0,19	0,00	0,41	0,34	0,13	0,01	0,21	0,01	0,21	0,46	0,24	0,06	0,11	0,01	0,79
	p-valor	0,56	0,02	0,63	0,04	0,58	0,04	0,83	0,08	0,39	0,06	0,59	0,01	0,59	0,01	0,54	0,10	0,52	0,08	0,94	0,53
	R ²	0,92		0,89		0,87		0,92		0,77		0,96		0,85		0,76		0,72		0,91	
	VE (%)	85,29		79,90		76,61		85,74		59,81		92,22		72,51		57,26		52,49		83,00	

y₀: inóculo inicial. r: taxa de progresso. R²: Coeficiente de determinação. VE: Variância explicada.

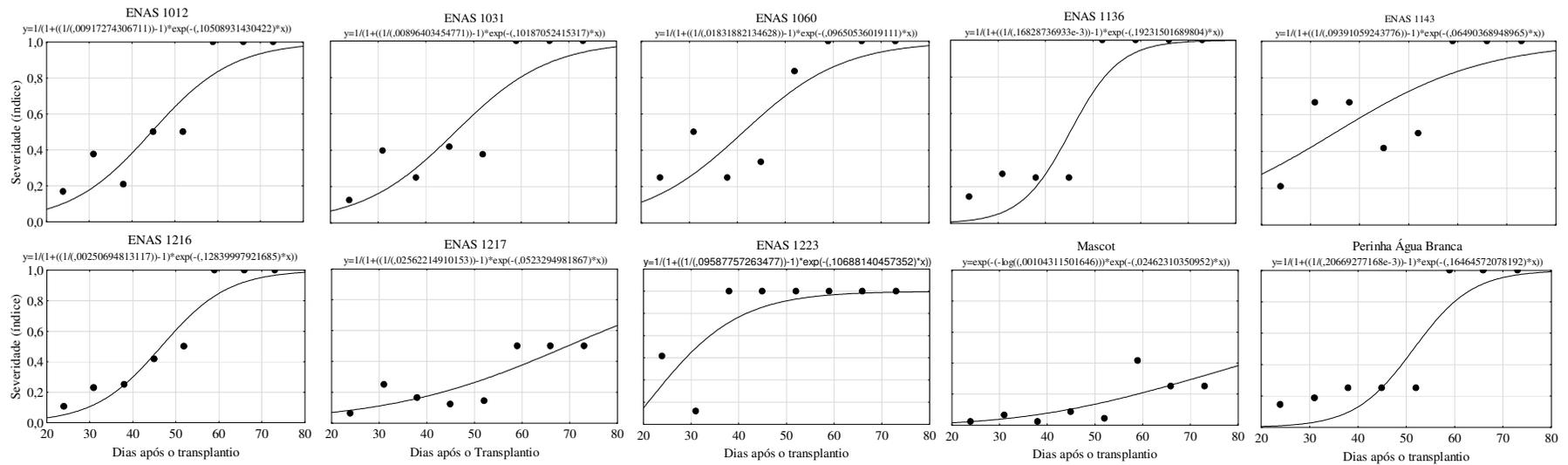


Figura 20. Severidade máxima (índice) da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), Seropédica-RJ, 2014. Linhas indicam os modelos ajustados aos dados (pontos), obtidos da média de 10 folhas por planta (32 plantas avaliadas por genótipo).

A fim de proporcionar um protocolo direcionado para melhoristas de plantas, com menos datas de avaliação, realizou-se a análise da severidade da mancha-de-estenfílio em cada uma das oito datas de avaliação. A análise de variância apontou efeito significativo de genótipos em todas as datas e entre blocos nas duas primeiras avaliações (Tabela 48). Em todas as datas de avaliação houve a discriminação entre os genótipos, mas somente aos 59 DAT, os resultados obtidos foram os mesmos encontrados quando utilizada a AACPD (Tabela 49). Nesta avaliação formaram-se três grupos: os mais suscetíveis (ENAS 1223), os moderadamente suscetíveis ('Perinha Água branca', ENAS 1012, ENAS 1031, ENAS 1060, ENAS 1136, ENAS 1143 e ENAS 1216) e os menos suscetíveis (ENAS 1217 e 'Mascot'). E ainda, este período de avaliação coincide com o ponto de inflexão e a estabilização da curva de progresso da mancha-de-estenfílio (60 DAT), quando utilizados para a plotagem a severidade média e a máxima, respectivamente.

Tabela 48. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) em diferentes datas de avaliação, em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio da severidade da mancha-de-estenfílio							
		24 DAT	31 DAT	38 DAT	45 DAT	52 DAT	59 DAT	66 DAT	73 DAT
Bloco	7	0,02*	0,06*	0,03	0,04	0,12	0,17	0,11	0,16
Genótipo	9	0,05*	0,20*	0,57*	1,07*	2,41*	5,45*	3,69*	2,88*
Erro	63	0,01	0,02	0,02	0,04	0,06	0,23	0,34	0,24
CV (%)		6,60	9,39	9,65	12,69	14,99	18,61	23,83	21,44

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

Tabela 49. Severidade (%) da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em diferentes datas de avaliação, em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x

Genótipos	Severidade (%) da mancha-de-estenfílio em oito datas de avaliação															
	24 DAT		31 DAT		38 DAT		45 DAT		52 DAT		59 DAT		66 DAT		73 DAT	
‘Mascot’	0,01	c	0,05	d	0,02	d	0,07	d	0,05	d	0,31	c	0,17	d	0,23	e
‘Perinha Água Branca’	0,31	ab	0,78	bc	1,06	bc	0,95	bc	0,82	bcd	5,45	b	4,54	bc	5,36	abc
ENAS 1012	0,55	a	0,87	bc	0,93	bc	1,28	bc	1,42	bc	5,65	b	5,21	bc	3,43	bcd
ENAS 1031	0,41	a	0,93	bc	1,15	bc	1,01	bc	1,29	bc	6,24	b	5,91	ab	3,42	cd
ENAS 1060	0,53	a	1,02	bc	1,22	bc	1,29	bc	2,02	b	6,73	b	6,88	ab	5,41	abc
ENAS 1136	0,48	a	1,04	ab	1,46	b	1,54	b	2,11	b	7,84	b	8,34	ab	6,78	abc
ENAS 1143	0,53	a	1,11	ab	1,50	b	1,26	bc	1,48	bc	5,57	b	6,05	ab	6,27	abc
ENAS 1216	0,26	abc	0,65	bc	1,05	bc	1,01	bc	1,38	bc	7,91	b	6,19	ab	8,21	a
ENAS 1217	0,10	bc	0,49	cd	0,58	c	0,51	cd	0,44	cd	1,65	c	1,69	cd	1,40	de
ENAS 1223	0,44	a	1,65	a	3,35	a	5,04	a	8,59	a	17,82	a	11,94	a	7,50	ab

^xMédias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na safra primavera/verão, a análise de variância apontou efeito significativo entre genótipos e blocos (Tabela 50).

Tabela 50. Análise de variância da severidade da mancha-de-estenfílio em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
Bloco	7	0,74*
Genótipo	9	3,76*
Erro	39	0,30
CV (%)		21,19

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$.

A maior severidade foi observada no acesso ENAS 1223 (16,97%), diferindo estatisticamente de ‘Mascot’ (0,56%), ‘Perinha Água Branca’ (5,73%), ENAS 1012 (5,78%), ENAS 1031 (1,67%), ENAS 1136 (5,52%), ENAS 1143 (6,71%), ENAS 1216 (3,74%) e ENAS 1217 (1,61) (Tabela 51). Na safra primavera/verão, ocorreu murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*), que aliada com as chuvas de novembro a dezembro, acarretou na morte de muitas plantas (Figura 21). Consequentemente, o período produtivo das plantas foi reduzido, realizando-se apenas quatro colheitas.

Tabela 51. Severidade (%) da mancha-de-estenfílio em 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014^x

Genótipo	Severidade (%)
‘Mascot’	0,56 d
‘Perinha Água Branca’	5,73 bc
ENAS 1012	5,78 bc
ENAS 1031	1,67 cd
ENAS 1060	11,05 ab
ENAS 1136	5,52 bcd
ENAS 1143	6,71 bc
ENAS 1216	3,74 bcd
ENAS 1217	1,61 cd
ENAS 1223	16,97 a

^x Médias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

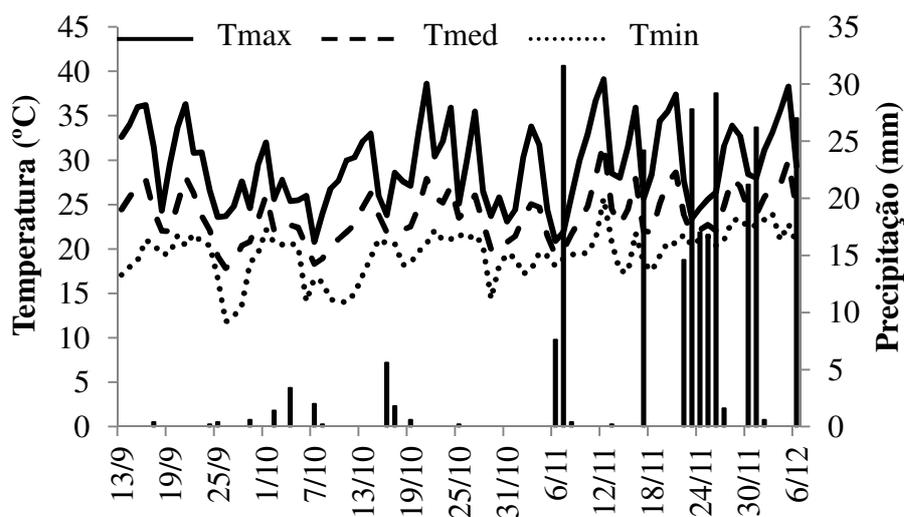


Figura 21. Dados Climáticos obtidos da estação metereológica do INMET localizada no município de Seropédica-RJ, durante o cultivo da safra primavera/verão 2014.

A análise de variância, referente a produção da safra primavera/verão, apontou efeito estatístico significativo entre blocos e genótipos para todas as variáveis analisadas (Tabela 52). A morte prematura das plantas, devido ao ataque da murcha bacteriana, além de reduzir a produção, colaborou com a alta porcentagem do coeficiente de variação.

Tabela 52. Análise de variância da Produção total e comercial de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014^x

Fonte de variação	GL	Produção total		Produção Comercial	
		Massa	Número	Massa	Número
Bloco		213,93*	14,83*	134,34*	10,83*
Genótipo		154,58*	16,19*	92,39*	13,72*
Erro		51,93	3,79	42,00	3,54
CV (%)		46,19	40,88	54,31	44,16

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$, somatório de quatro colheitas.

A massa total de frutos colhidos variou de 125,69 a 473,90 g, sendo o mais produtivo o ENAS 1143, diferindo estatisticamente apenas do ENAS 1031 (Tabela 53). O mesmo foi observado em relação a massa comercial. A baixa produção do acesso ENAS 1031 também foi registrada por Costa (2013), a massa total do acesso foi de 81 g planta⁻¹.

Os genótipos que produziram mais frutos foram o ENAS 1143 (45,46), ENAS 1216 (47,94) e ENAS 1217 (40,12), diferindo estatisticamente do ENAS 1031 (7,75) (Tabela 53). O número de frutos colhidos seguiu a mesma tendência. Alguns genótipos que tiveram respostas mais produtivas na safra outono/inverno foram menos produtivos nesta safra. Esta situação pode estar relacionada com o hábito mais tardio dos genótipos, uma vez que, devido a ocorrência da murcha bacteriana seu ciclo foi encurtado. Baixas produções devido a ocorrência de doenças também foi relatado por Costa (2013), onde a requeima reduziu a produção do acesso ENAS 1060 de 1011 g para 270 g planta⁻¹.

Tabela 53. Produção total e comercial de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014^x

Genótipo	Massa de frutos (g)				Número de frutos			
	Total		Comercial		Total		Comercial	
ENAS 1012	214,89	ab	126,17	ab	15,75	ab	11,87	ab
ENAS 1031	125,69	b	109,75	b	7,75	b	6,87	b
ENAS 1060	292,39	ab	150,23	ab	22,88	ab	13,30	ab
ENAS 1136	383,92	a	189,37	ab	27,56	ab	18,71	ab
ENAS 1143	473,90	a	376,30	a	45,46	a	41,81	a
ENAS 1216	400,76	a	223,79	ab	47,94	a	36,04	a
ENAS 1217	324,82	ab	228,19	ab	40,12	a	33,28	a
ENAS 1223	443,59	a	185,11	ab	22,88	ab	15,24	ab
‘Mascot’	232,72	ab	145,54	ab	28,58	ab	24,97	ab
‘Perinha Água Branca’	301,34	ab	231,82	ab	24,19	ab	22,27	ab

Médias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$). Dados referentes a somatória de quatro colheitas.

Os danos em frutos foram caracterizados e a análise de variância apontou efeito de genótipo e blocos para frutos rachados (Tabela 54). Para frutos atacados pela broca grande e por requeima houve diferença estatística entre blocos. E outros defeitos ocorridos nos frutos apresentaram diferença estatística entre genótipos.

Tabela 54. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		Broca		Rachados	Podridão mole ^y	Requeima ^z	Outros
		Grande ^x	Pequena ^w				
Bloco	7	0,30*	0,13	2,17*	0,28	0,20*	0,53
Genótipo	9	0,05	0,10	3,16*	0,23	0,09	0,57*
Erro	63	0,07	0,10	0,58	0,17	0,09	0,28
CV (%)		24,37	27,60	43,35	33,23	28,39	37,62

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. Dados obtidos pela somatório de quatro. ^y*Helicoverpa zea* Bod. ^w*Neoleucinodes elegantalis* Guenée. ^z*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. ^z*Phytophthora infestans*.

Dentro de cada genótipo, a análise de variância apontou diferença estatística significativa entre os danos ocorridos em frutos de ‘Perinha Água Branca’, ENAS 1136, ENAS 1216 e ENAS 1217 (Tabela 55). Houve diferença estatística entre os blocos no ‘Mascot’, ENAS 1012 e ENAS 1031, e entre blocos e genótipos para o ENAS 1060 e ENAS 1223.

O número de frutos rachados foi maior no ENAS 1216, não diferindo estatisticamente de ENAS 1136, ENAS 1217 e ENAS 1223 (Tabela 56). O número de frutos com defeitos não classificados foi maior no ENAS 1136 em relação ao ENAS 1031 e ENAS 1217. Entre as causas de danos em frutos de ‘Perinha Água Branca’, a maior foi por frutos com defeitos não discriminados e a menor por ataque de requeima. Já em ENAS 1060, os danos por rachadura foi maior que por requeima. O número de frutos com “outros defeitos” em ENAS 1136 diferiu

estatisticamente de frutos com broca pequena, podridão mole e requeima. A principal causa de danos do ENAS 1216 e ENAS 1217 foi rachadura. A rachadura também foi a principal causa de defeitos no ENAS 1223, não diferindo apenas da podridão mole. Para Rocha (2008), a rachadura, juntamente com a antracnose, as anomalias fisiológicas, como frutos deformados, escaldadura e podridão apical, também foram as principais causas de descarte. A rachadura dos frutos pode estar relacionada com a concentração de chuvas no período de colheita, conforme o verificado na figura 21.

De acordo com os dados obtidos, nas duas safras, tem-se que entre os acessos da coleção Laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes, o ENAS 1217 se destacou pela baixa suscetibilidade à mancha-de-estênfilio. E para a otimização do processo de avaliação da mancha-de-estênfilio no campo, recomenda-se estimar a severidade nos três folíolos terminais de folhas situadas na porção mediana da planta (da quarta à décima folha contada do ápice para a base) e em um período próximo dos 60 DAT.

Tabela 55. Análise de variância para os defeitos em frutos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014^x

Fonte de variação	GL	Quadrado médio									
		MAS	PAB	ENAS 1012	ENAS 1031	ENAS 1060	ENAS 1136	ENAS 1143	ENAS 1216	ENAS 1217	ENAS 1223
Bloco	7	0,37*	0,04	1,75*	1,81*	0,42*	0,40	0,10	0,24	0,31	0,64*
Danos	5	0,35	0,11*	0,05	0,02	0,50*	1,60*	0,17	4,86*	1,86*	2,09*
Erro	63	0,14	0,04	0,17	0,02	0,16	0,30	0,10	0,34	0,33	0,25
CV (%)		31,57	17,68	30,53	12,45	32,32	39,60	26,58	39,17	45,03	33,77

*Teste Tukey ($p < 0,05$). ^xDados transformados por $\sqrt{x+1}$. Dados obtidos pela somatório de quatro colheitas. MAS: 'Mascot'. PAB: 'Perinha Água Branca'

Tabela 56. Número de frutos com defeitos de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra primavera/verão 2014

Genótipo	Broca						Podridão mole ^y	Rachados	Requeima ^z	Outros								
	Grande ^x		Pequena ^w															
'Mascot'	0,04	A	a	0,31	A	a	0,22	A	a	1,29	A	b	0,00	A	a	1,75	A	ab
'Perinha Água Branca'	0,12	AB	a	0,06	AB	a	0,49	AB	a	0,35	AB	b	0,00	B	a	0,82	A	ab
ENAS 1012	1,00	A	a	1,12	A	a	1,75	A	a	1,25	A	b	1,00	A	a	1,25	A	ab
ENAS 1031	0,75	A	a	0,81	A	a	0,87	A	a	0,50	A	b	1,00	A	a	0,31	A	b
ENAS 1060	0,16	AB	a	0,06	AB	a	0,31	AB	a	2,29	A	b	0,01	B	a	1,41	AB	ab
ENAS 1136	0,44	ABC	a	0,22	BC	a	0,41	BC	a	3,27	AB	ab	0,00	C	a	3,98	A	a
ENAS 1143	0,25	A	a	0,84	A	a	0,64	A	a	1,06	A	b	0,00	A	a	0,72	A	ab
ENAS 1216	0,20	B	a	0,39	B	a	0,59	B	a	9,71	A	a	0,00	B	a	1,12	B	ab
ENAS 1217	0,31	B	a	0,03	B	a	0,46	B	a	5,63	A	ab	0,00	B	a	0,20	B	b
ENAS 1223	0,37	B	a	0,33	B	a	1,93	AB	a	5,69	A	ab	0,00	B	a	1,79	B	ab

Médias seguidas por letras diferentes entre si diferem estatisticamente segundo Teste de Tukey ($p < 0,05$), letras maiúsculas para comparação entre defeitos (entre colunas) e minúsculas entre genótipos (na mesma coluna). Dados por planta, referentes a somatória de quatro colheitas. ^x*Helicoverpa zea* Bod. ^w*Neoleucinodes elegantalis* Guenée. ^y*Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum*. ^z*Phytophthora infestans*.

22. CONCLUSÕES

1. A maior severidade da mancha-de-estenfilio foi observada nas posições mais baixas das plantas (folhas mais velhas).
2. A severidade da mancha-de-estenfilio deve ser estimada na porção mediana da planta (da quarta à décima folha contada do ápice para a base) e em um período próximo dos 60 DAT.
3. O acesso ENAS 1223 foi o mais suscetível, com AACPD = 6,71 na safra outono/inverno e severidade média de 16,97% na safra primavera/verão; não sendo recomendado para programa de melhoramento visando resistência a mancha-de-estenfilio.
4. Entre os acessos da coleção do laboratório de Epidemiologia e Patologia de sementes, o ENAS 1217 (AACPD = 0,87 na safra outono/inverno e severidade de 1,61% na safra primavera/verão) pode ser selecionado como resistente a mancha-de-estenfilio.
5. O acesso ENAS 1216 se destacou pela maior produção na safra outono/inverno (65,98 frutos por planta).

23. REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5. ed. Amsterdam: Elsevier, 2005. 948p.
- BOFF, P. **Epidemiologia e controle químico da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* Webber) e da pinta-preta (*Alternaria solani* (Ellis e Martin, Jones y Grout)) em dois sistemas de condução do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill).** 192f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1988.
- BOFF, P.; ZAMBOLIM, L.; RIBEIRO DO VALE, F. X. Escalas para avaliação de severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) e da pinta-preta (*Alternaria solani*) em tomateiro. **Fitopatol. Bras.**, 16, p. 280–283, 1991.
- COSTA, E. S. P. **Tomate do grupo cereja para cultivo orgânico e resistente à requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.** 118f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2013.
- DOMINGUES, D. P. **Etiologia e controle da mancha-de-estenfílio do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) no estado do Rio de Janeiro.** 81f. Dissertação. (Mestrado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.
- DOMINGUES, D. P.; SANTOS, C. A. dos; KOWATA-DRESCH, L. S.; ABOUD, A. C. S.; CARMO, M. G. F. do. Progresso da mancha-de-estenfílio e da requeima em cultivares comerciais de tomateiro sob manejo orgânico. Dados não publicados.
- ELLIS, M. B.; GIBSON, I. A. S. ***Stemphylium lycopersici*.** CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, n. 472, 1975. 2p.
- INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. On Line. Disponível em www.inmet.gov.br Acesso em: 27.11.2012.
- 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.
- 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: Doenças das plantas cultivadas**, v. 2, São Paulo: Ed. Agronômica Ceres. 1997, 705 p.
- LEAL, M. A. A. **Produção de tomate orgânico: sistema PESAGRO-RIO.** Niterói: PESAGRO-RIO, 2006. 39 p. (PESAGRO-RIO. Documentos, 97).
- OJAMBO, P. S.; SCHERM, H. Temporal progress of Septoria leaf spot on rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*). **Plant Dis.**, v. 89, p. 1090-1096, 2005.

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

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

ROCHA, M. C. **Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agronômicas, físicoquímicas e sensoriais.** 191 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Seropédica: Universidade Federal do Paraná, 2008.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, n. 67, p. 1051-1056, 1977.

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

24. CONCLUSÕES GERAIS

CAPÍTULO I

1. Para ensaios com a germinação de conídios de *Stemphylium solani* recomenda-se o uso da temperatura de 25°C, período de molhamento de seis horas e com 24 horas de escuro.
2. Para futuros protocolos de produção de inóculo são recomendadas as temperaturas de 25°C para favorecer o crescimento micelial e de 15°C para fomentar a esporulação. Para a produção abundante de conídios é necessário a alternância de luminosidade (claro/escuro) e o uso de isolados mais esporulantes, como o SENA302.

CAPÍTULO II

3. Os genótipos 'Perinha Água Branca' e 'Mascot' podem ser utilizadas em ensaios com mancha-de-estenfílio, como padrão suscetível e resistente, respectivamente.
4. Para ensaios futuros com mancha-de-estenfílio em plantas de tomateiro em condições controladas recomendam-se o uso de temperaturas alternadas de 25°C diurno e 15°C noturno, período de 24 horas de molhamento e suspensão conidial na concentração de 1×10^4 conídios mL⁻¹.
5. A severidade da mancha-de-estenfílio foi maior em folhas mais velhas (baixeiras), este efeito acentua-se com o desenvolvimento da planta.

CAPÍTULO III

6. Plantas adultas foram mais suscetíveis à doença e com base nestas avaliações foram selecionados os acessos ENAS 1136 e ENAS 1143 como testemunhas suscetíveis e ENAS 1012, ENAS 1031, ENAS 1060 ENAS 1216, ENAS 1217 e ENAS 1223 para os ensaios em campo.

CAPÍTULO IV

7. A severidade da mancha-de-estenfílio deve ser estimada na porção mediana da planta (da quarta à décima folha contada do ápice para a base) e em um período próximo dos 60 DAT.
8. O acesso ENAS 1217 pode ser selecionado como resistente a mancha-de-estenfílio.

ANEXO I

Tabelas

Tabela I. 1 Área plantada (ha), quantidade (t ha-1) e produtividade (t ha-1) de tomate (*Solanum lycopersicum*), segundo estados brasileiros^x e principais municípios produtores do estado do Rio de Janeiro.

Local	Área plantada	Produção	Produtividade
Brasil	64,782	3,873,985	59,80
Norte	3,692	58,494	15,84
Acre	2	23	11,50
Amazonas	91	1,430	15,71
Roraima	449	3,684	8,20
Pará	412	10,007	24,29
Amapá	-	-	-
Tocantins	-	-	-
Rondônia	2,738	43,350	15,83
Nordeste	10,921	421,258	38,57
Maranhão	197	3,961	20,11
Piauí	167	4,478	26,81
Ceará	2,309	106,489	46,12
Rio Grande do Norte	155	4,535	29,26
Paraíba	469	12,771	27,23
Pernambuco	2,857	100,441	35,16
Alagoas	56	4,570	81,61
Sergipe	264	4,306	16,31
Bahia	4,447	179,707	40,41
Sudeste	25,246	1,601,052	63,42
Minas Gerais	6,878	444,615	64,64
Espírito Santo	1,983	136,435	68,80
São Paulo	13,768	824,337	59,87
Rio de Janeiro	2,617	195,665	74,77
Cambuci	250	22,500	90,00
São José de Ubá	400	32,000	80,00
Paty do Alferes	330	26,400	80,00
São José do Vale do Rio Preto	110	11,000	100,00
Nova Friburgo	170	11,900	70,00
Sul	10,219	599,087	58,62
Paraná	5,585	338,488	60,61
Santa Catarina dez jan fev	2,311	153,014	66,21
Rio Grande do Sul	2,323	107,585	46,31
Centro-oeste	14,704	1,194,094	81,21
Mato Grosso do Sul	57	2,755	48,33
Mato Grosso	207	4,397	21,24
Goiás março a setembro	14,028	1,157,078	82,48
Distrito Federal	412	29,864	72,49

Fonte: IBGE, 2012 (– Ausência de dados)

Tabela I. 2 Hospedeiras de *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*. Retirado de REIS & BOITEUX, 2006.

Hospedeira			<i>S. solani</i>	<i>S. lycopersici</i>
Nome comum	Nome científico	Família Botânica		
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	Solanaceae	+ ^R	+ ^R
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	Solanaceae	+	-
Berinjela	<i>Solanum melongena</i>	Solanaceae	+ ^R	-
Jiló	<i>Solanum gilo</i>	Solanaceae	+ ^R	-
Pimentão	<i>Capsicum annuum</i>	Solanaceae	+ ^R	-
Lobeira	<i>Solanum lycocarpum</i>	Solanaceae	+ ^R	-
Fisalis	<i>Physalis</i> sp.	Solanaceae	+	-
Algodão	<i>Gossypium hirsutum</i>	Malvaceae	+ ^R	-
Sálvia	<i>Salvia officinallis</i>	Lamiaceae	-	+
Crisântemo	<i>Chrysanthemum eucanthemum</i>	Asteraceae	-	+
Cravo	<i>Dianthus</i> sp.	Caryophyllaceae	-	+
Tremoço	<i>Lupinus</i> sp.	Leguminosae	+	-
Mamão	<i>Carica papaya</i>	Caricaceae	-	+ ^R

+ = hospedeira.

^R = registrado no Brasil.

- = Sem reação (resposta).

Tabela I. 3 Genes de resistência (GR) e genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) utilizados como fonte de resistência a doenças.

GR	Resistência	Fonte
<i>I</i>	<i>Fusarium oxysporium</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (raça 1)	Pan American, Ângela Gigante I-5100, Santa Clara, Jéssica F1.
<i>I</i> ₂	<i>Fusarium oxysporium</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (raça 2)	Walter, Flora Dade, Rio Grande, Rio Fuego, Nemadoro, Cometa, Débora F1, Cyntia F1.
<i>I</i> ₃	<i>Fusarium oxysporium</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (raça 3)	BHRS 2-3
<i>Ve</i>	<i>Verticillium albo-atrum</i> (raça 1) <i>V. dahliae</i>	
<i>Se</i>	<i>Septoria lycopersici</i>	LA 1800, PI 127826 (<i>L. hirsutum</i> var. <i>hirsutum</i>)
<i>Ph1</i>	<i>Phytophthora infestans</i> (raça 1)	New Yorker
<i>Ph2</i>	Resistência parcial <i>P. infestans</i>	Heline e Pieraline
<i>Sm</i>	<i>Stemphylium solani</i>	IPA-3, Flra Dade, Cometa, Tropic, Tropicana, Ângela I-5100, Santa Clara
<i>Tm</i> [*]	TMV (diferentes estirpes)	
<i>Mi</i>	<i>Meloidogyne incógnita</i> e <i>M. javanica</i>	Rossol, VFN-8, IPA-1, IPA-2, IPA-3, IPA-4, IPA-5, Nemadoro, Vila Real, Cometa, Tropicana, Del REy e Itaparica
<i>Pto</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> Topovirus	Ontário 7710 e Botu-13 <i>L. esvulentum</i> – Rey de Los Tempranos e derivados (linhagens TSWV-547, TSWV-556, híbrido Jéssica F1); <i>L. pimpinellifolium</i> – PI 732293; <i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i> – PI 127826 e <i>L. peruvianum</i> – LA4441
	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Caraibe, Rodade, Yoshimatsu, Rotam-4 e Dina. A herança provavelmente é poligênica ou oligogênica.
	<i>Clavibacter michiganensis</i>	Bulgária-12, Okitsu Sozai 1-20.
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	H-7998 (hipersensibilidade a raça 1 e não a raça 2)

*Os genes *Tm-2*, *Tm-2*² são alélicos, ambos dominantes ao alelo que confere susceptibilidade e estes se diferem quanto a estirpes que conferem resistência. O gene *Tm* localiza-se em um locus diferente.

Tabela I. 4 Plantas em fase de florescimento (12/06/2013) de 10 genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), em condição de campo. Seropédica-RJ, Brasil, safra outono/inverno 2014^x.

Genótipos	Porcentagem de plantas em fase de florescimento								Média
	Blocos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
‘Mascot’	75,00	25,00	75,00	50,00	100,00	100,00	75,00	25,00	65,63
‘Perinha Água Branca’	50,00	50,00	25,00	75,00	50,00	25,00	25,00	75,00	46,88
ENAS 1012	50,00	25,00	0,00	25,00	0,00	0,00	0,00	0,00	12,50
ENAS 1031	0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	25,00	50,00	0,00	15,63
ENAS 1060	50,00	100,00	100,00	0,00	50,00	75,00	50,00	25,00	56,25
ENAS 1136	50,00	0,00	50,00	50,00	25,00	100,00	75,00	25,00	46,88
ENAS 1143	50,00	0,00	25,00	0,00	0,00	50,00	25,00	0,00	18,75
ENAS 1216	50,00	0,00	50,00	25,00	100,00	0,00	0,00	25,00	31,25
ENAS 1217	0,00	0,00	0,00	0,00	25,00	25,00	25,00	0,00	9,38
ENAS 1223	0,00	75,00	50,00	100,00	100,00	50,00	0,00	100,00	59,38

Referente a quatro plantas por parcela.

Tabela I. 5 Características morfológica de genótipos de tomateiro, segundo Biodiversity International, antigo International Plant Genetic Resource Institute (IPGRI). Seropédica-RJ. Safra outono/inverno 2014.

GEN ^x	Fase cotiledonar					Fase: 2º e 3º cacho amadurecido									
	Hipocótilo			Cotilédones (mm) ⁴		Planta			Haste			Folhas			
	Cor ¹	Intens. ²	Pilos. ³	Comp.	Largura	Cresc. ⁵	Tamanho ²	Medição ⁶	Pilos. ⁷	Entrenós ²	Densidade ²	1ª inflores. ⁸	Direção ⁹	Dissec. ²	Cor ¹¹
1223	2	3	1	20,39	7,04	4	5	97,50	3	7	5	7	7	3	2
1136	3	5	1	24,84	8,25	4	7	124,70	5	7	5	3	3	3	2
1216	3	3	1	20,82	8,16	4	7	132,75	3	7	7	7	5	3	2
1031	4	7	1	26,94	9,29	4	7	139,25	5	7	7	7	7	5	2
1217	4	7	1	21,86	7,63	4	5	94,22	5	5	5	7	5	5	2
1143	2	5	1	22,94	7,81	4	5	113,85	5	5	5	7	7	5	2
1012	3	3	1	25,84	9,02	4	7	140,55	3	5	5	3	5	3	2
PAB						4	5	111,30	5	5	5	3	7	3	2
1060	4	7	1	25,64	8,73	4	7	143,95	5	7	5	7	3	5	2

GEN ^x	Fase: 3º fruto do 2º ou 3º cacho maduro														
	Inflorescência ¹²	Corola		Comprimento (mm) ⁴		Estilete		Estames	Fruto						
		Cor ¹³	Tipo ¹⁴	Pétala	Sépala	Posição ¹⁵	Pêlos ¹⁶	Comp. ⁴	Descênc. ¹⁷	Cor ¹⁸	Pubes ²	Formato ¹⁹	Tamanho ⁴	Peso ²⁰	
1223	3	2	1	9,24	6,71	2	2	7,342	2	1	3	3, 6 e 8	30,24	14,67	
1136	3	2	1	9,54	6,30	2	2	7,113	2	3	5	3, 5 e 8	44,37	21,69	
1216	3	2	1	10,15	7,63	2 e 3	2	7,433	2	3	3	3	25,83	8,80	
1031	3	2	1	8,75	8,37	2	2	7,396	2	5	3	3	32,60	22,74	
1217	3	2	1	8,10	7,51	2	2	6,005	2	3	3	3	21,88	7,05	
1143	3	2	1	10,16	5,54	2	1	7,066	2	5	5	3	29,95	14,99	
1012	3	2	1	8,41	8,67	2	2	6,558	2	5	3	7	41,14	14,60	
PAB	3	2	1	8,61	6,94	2	2	6,8	2	3	3	6	37,29	15,79	
1060	3	2	1	10,15	7,83	2	2	7,415	2	5	5	3, 4, 6 e 8 e outros	34,90	17,95	

Continuação...

	Fruto								
	Cor ²¹	Destacamento ²²	Formato do ombro ²³	Descamamento ²⁴	Pericarpo ⁴	Forma transversal ²⁵	Tamanho do núcleo ⁴	Nº de lóculos	Cicatriz do pistilo ²⁶
1223	5 e 3	3	3	3	3,98	1	9,38	2	1
1136	5	3	3	5	4,70	1	10,86	2, 4 e 3	1
1216	5	3	1 e 3	5	3,32	1	8,35	2	1
1031	5 e 3	3	3 e 5	5	4,87	1	12,64	3 e 2	1
1217	5	3	3	3	2,57	1	5,98	2	1
1143	5 e 3	3	5	3	4,46	1	11,61	2 e 3	1
1012	5 e 3	3	1	5	3,76	1	8,33	2	1
PAB	5 e 3	3	3	7	4,62	1	7,70	2	1
1060	5 e 3	3	3	3	3,79	1	10,45	2 e 3	1

¹1 (verde); 2 (1/4 púrpura); 3 (1/2 púrpura) e 4 (púrpura). ²3 (baixa); 5 (intermediária) e 7 (alta). ³0 (ausente) e 1 (presente). ⁴Expresso em mm. ⁵1 (anão); 2 (determinado); 3 (semi determinado) e 4 (indeterminado). ⁶Expresso em cm. ⁷3 (esparso); 5 (intermediário) e 7 (denso). ⁸Número de folhas abaixo da 1ª inflorescência: 3 (poucas folhas) e 7 (muitas folhas). ⁹3 (semiereta); 5 (horizontal) e 7 (caída). ¹⁰1 (anão); 2 (folha de batata); 3 (padrão); 4 (*Peruvianum*); 5 (*Pimpinellifolium*); 6 (*Hirsutum*) e 7 (outros). ¹¹Nível de antocianina na nervura: 1 (Nervura obscura) e 2 (normal – clara). ¹²1 (geralmente unípara); 2 (parte unípara e parte múltipara) e 3 (múltipara). ¹³1 (branca); 2 (amarela); 3 (laranja) e 4 (outra). ¹⁴1 (fechada) e 2 (aberta). ¹⁵1 (inserido); 2 (mesmo nível); 3 (levemente acima) e 4 (altamente acima dos estames). ¹⁶1 (ausente) e 2 (presente). ¹⁷1 (poricida) e 2 (longitudinal). ¹⁸1 (branco esverdeado); 3 (verde claro); 5 (verde quase escuro) e 7 (verde escuro). ¹⁹1 (Achatado); 2 (ligeiramente achatada); 3 (arredondado); 4 (alta arredondada); 5 (forma de coração); 6 (Cilíndrico - longo oblongo); 7 (piriforme); 8 (Elipsóide - em forma de ameixa) e 9 (Outros). ²⁰Peso em grama. ²¹Cor (maduro); 1 (verde); 2 (amarelo); 3 (laranja); 4 (rosa); 5 (vermelho) e 6 (outros). ²²Facilidade do fruto em se destacar do pedúnculo: 3 (fácil); 5 (intermediário) e 7 (difícil). ²³1 (plano); 3 (ligeiramente deprimido); 5 (Moderadamente deprimido) e 7 (fortemente deprimido). ²⁴Facilidade da retirada da pele do fruto: 3 (fácil); 5 (intermediário) e 7 (difícil). ²⁵1 (rodada); 2 (angular) e 3 (irregular). ²⁶1 (ponto); 2 (estrelado); 3 (linear) e 4 (irregular). ^xDados observados em 10 plantas por genótipos (GEN).

ANEXO II

Figuras



Figura I. 1 Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) tutoradas verticalmente e conduzidas em uma haste (A). Cacho floral (B) com detalhe aproximado da flor e fruto verde (C). Seropédica-RJ, 2014.

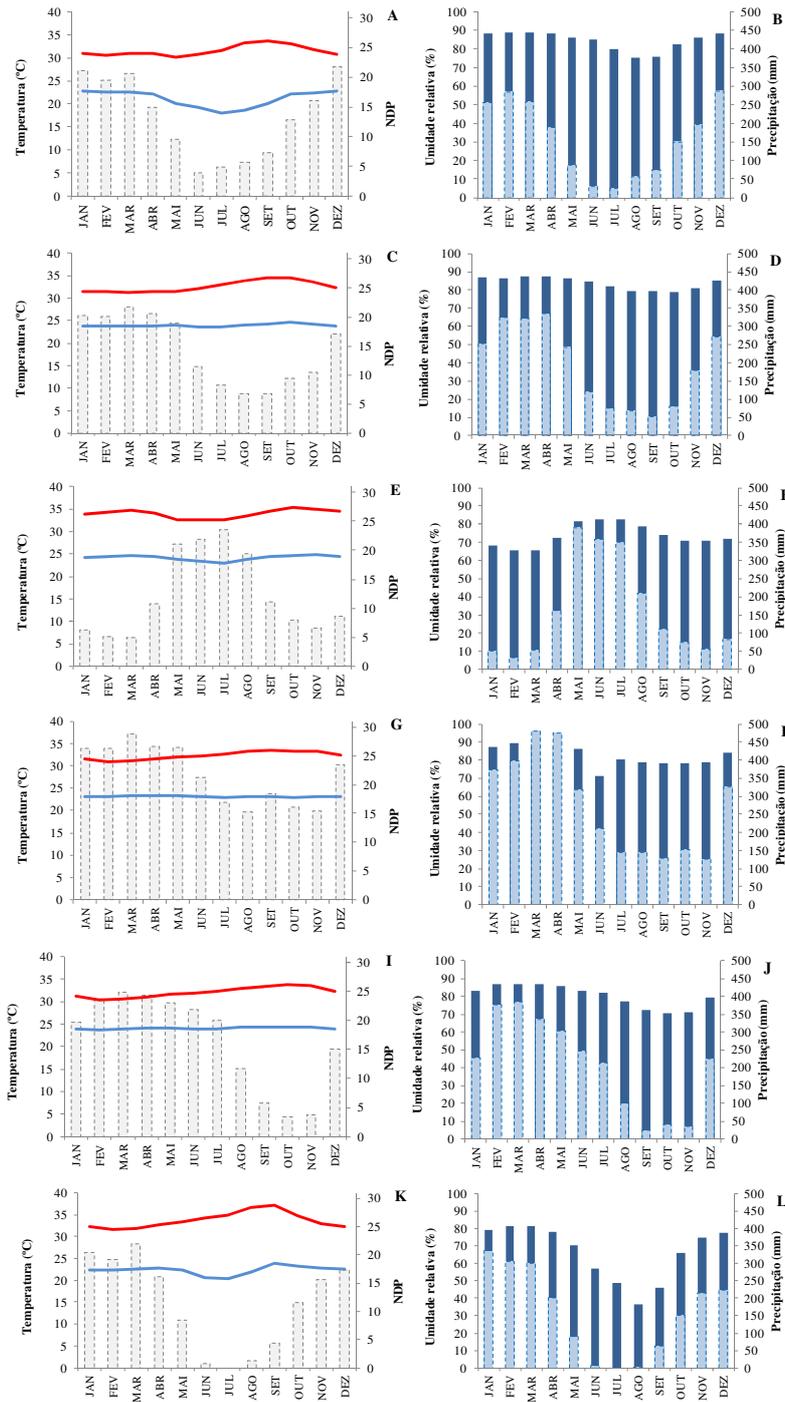


Figura I. 2 Monitoramento climático mensal segundo os estados brasileiros (Acre - A e B; Amazonas – C e D; Roraima – E e F; Pará – G e H; Amapá – I e J e Tocantins – K e L) da região norte, dados cedidos pelo INMET (2003 a 2011).

Coluna da esquerda: Temperatura média máxima (linha vermelha); temperatura média mínima (linha azul) e Número de dias com precipitação – NDP (Coluna tracejada).

Coluna direita: Umidade média Relativa do Ar (coluna sólida azul) e precipitação média (coluna tracejada). Estado de Rondônia sem dados.

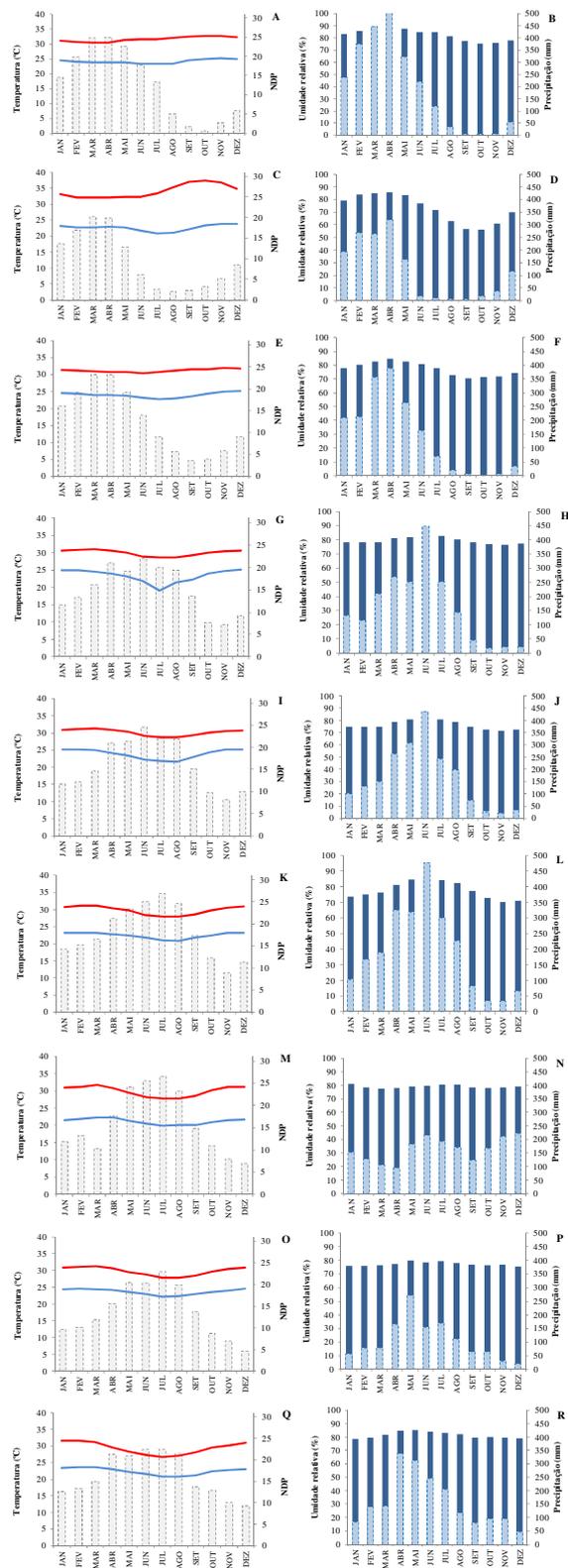


Figura I. 3 Monitoramento climático mensal segundo os estados brasileiros (Maranhão – A e B; Piauí – C e D; Ceará – E e F; Rio Grande do Norte G e H; Paraíba – I e J; Pernambuco – K e L; Alagoas – M e N; Sergipe – O e P e Bahia – Q e R) da região nordeste, dados c edidos pelo INMET (2003 a 2011). Coluna da esquerda: Temperatura média máxima (linha vermelha); temperatura média mínima (linha azul) e Número de dias com precipitação – NDP (Coluna tracejada). Coluna direita: Umidade média Relativa do Ar (coluna sólida azul) e precipitação média (coluna tracejada).

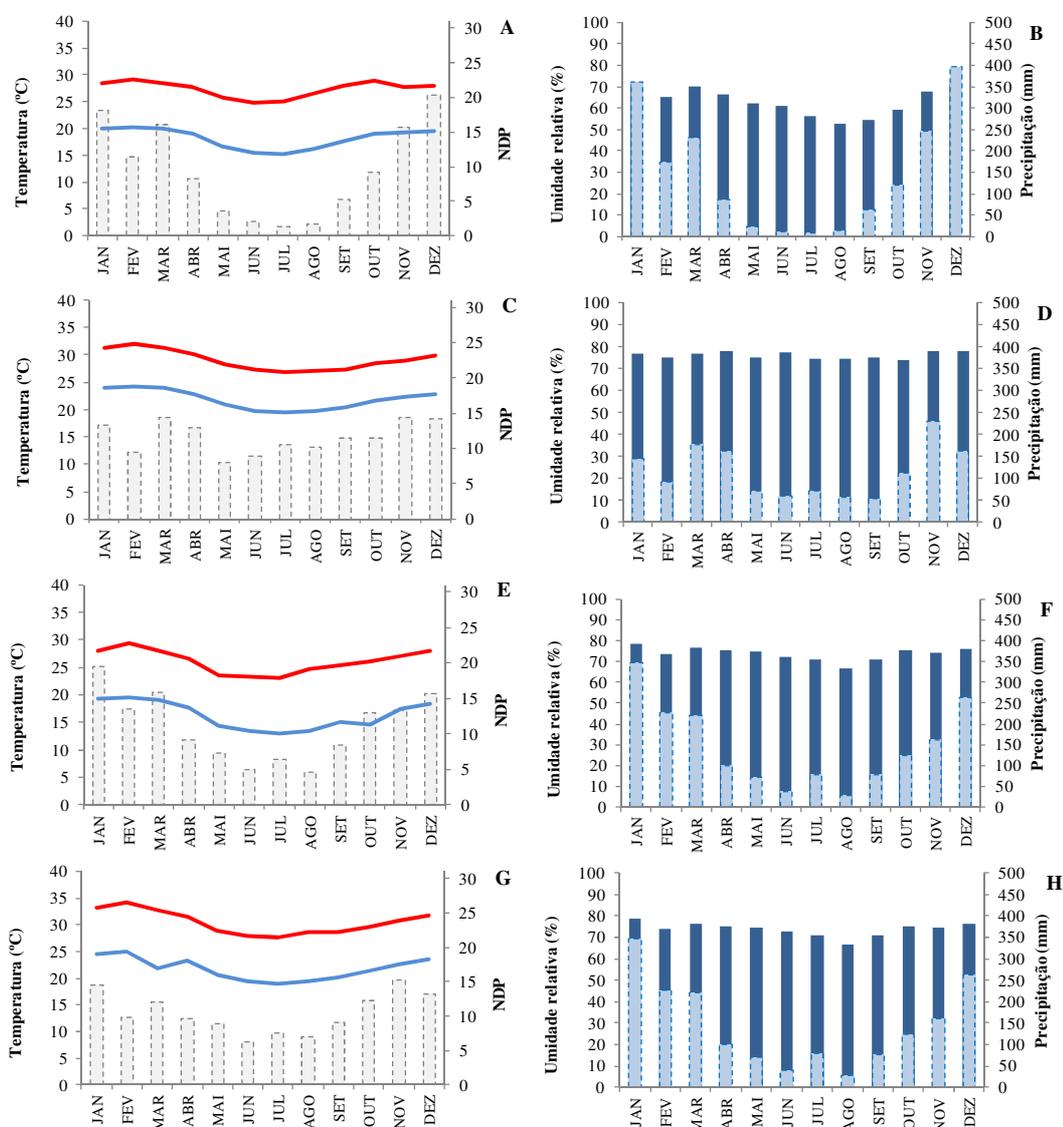


Figura I. 4 Monitoramento climático mensal segundo os estados brasileiros (Minas Gerais – A e B; Espírito Santo – C e D; São Paulo – E e F e Rio de Janeiro – G e H) da região sudeste, dados cedidos pelo INMET (2003 a 2011).

Coluna da esquerda: Temperatura média máxima (linha vermelha); temperatura média mínima (linha azul) e Número de dias com precipitação – NDP (Coluna tracejada).
Coluna direita: Umidade média Relativa do Ar (coluna sólida azul) e precipitação média (coluna tracejada).

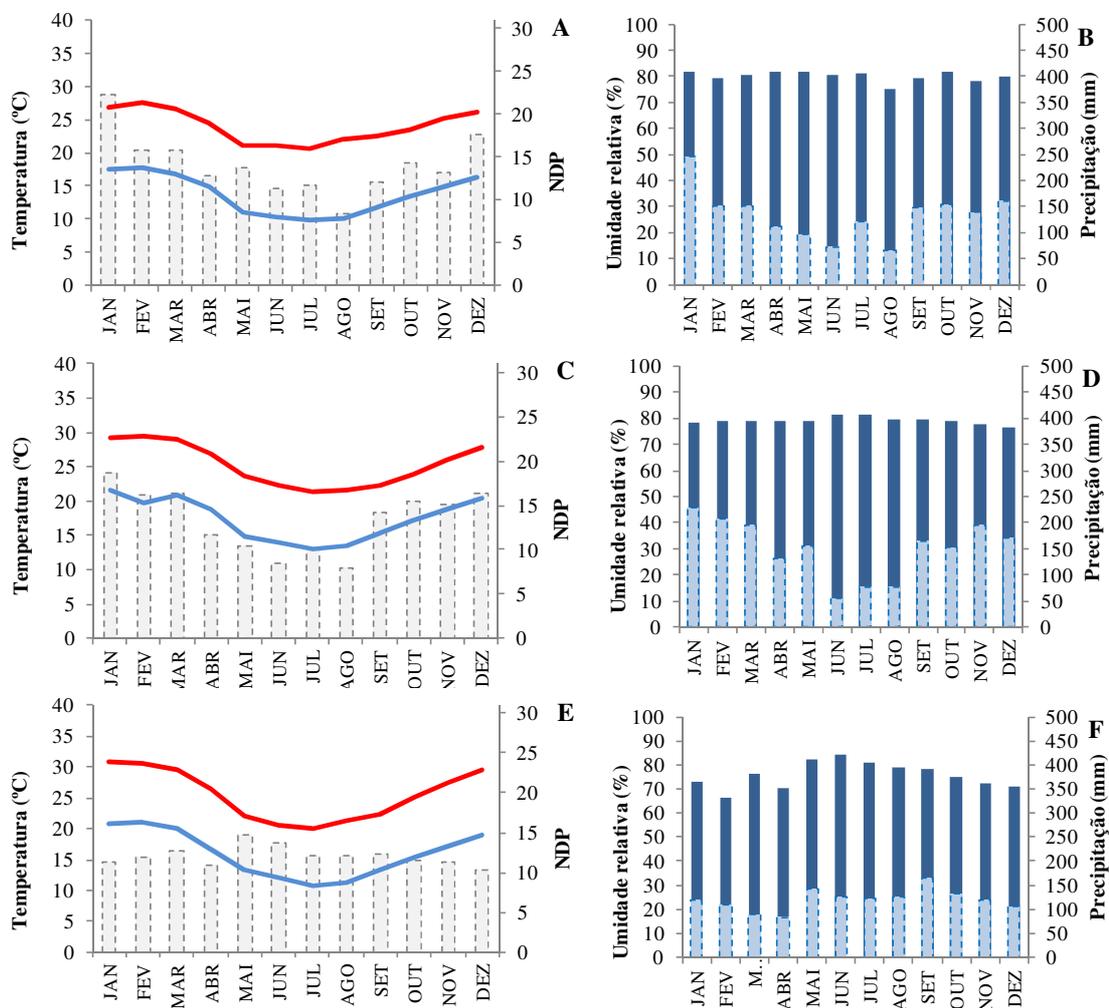


Figura I. 5 Monitoramento climático mensal segundo os estados brasileiros (Paraná - A e B; Santa Catarina – C e D e Rio Grande do Sul – E e F) da região sul, dados cedidos pelo INMET (2003 a 2011).

Coluna da esquerda: Temperatura média máxima (linha vermelha); temperatura média mínima (linha azul) e Número de dias com precipitação – NDP (Coluna tracejada).
 Coluna direita: Umidade média Relativa do Ar (coluna sólida azul) e precipitação média (coluna tracejada).

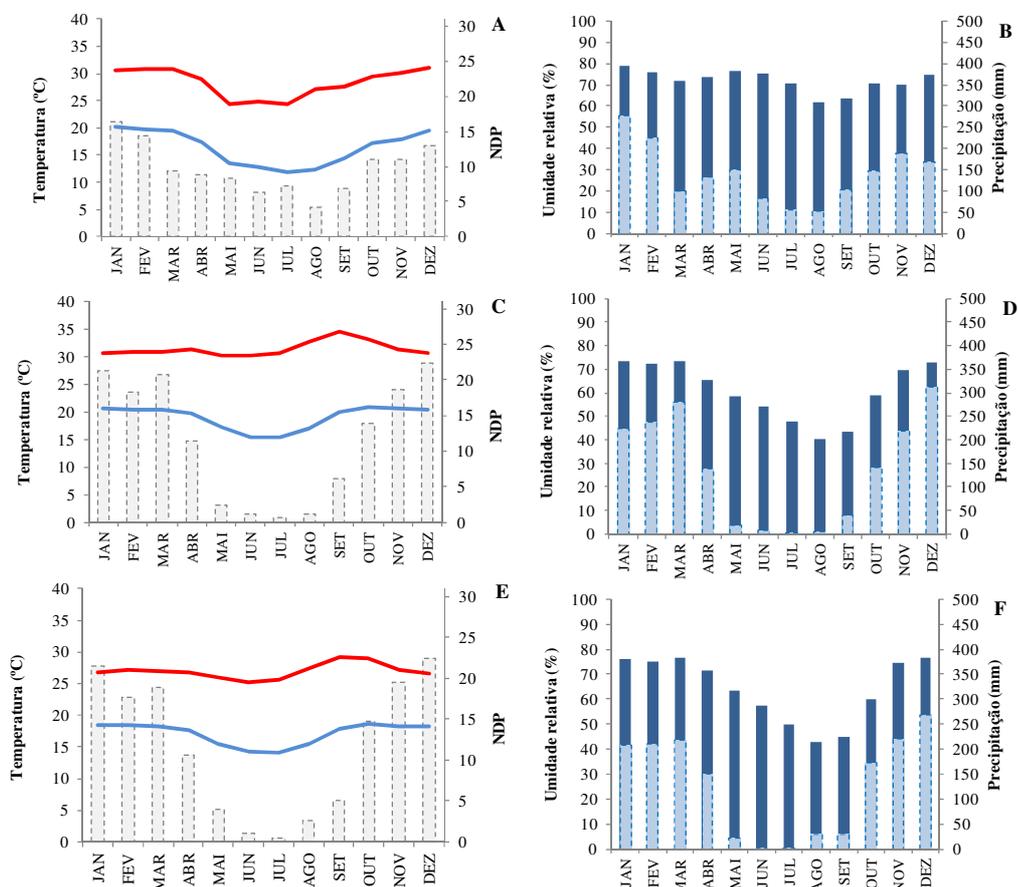


Figura I. 6 Monitoramento climático mensal segundo os estados brasileiros (Mato Grosso do Sul - A e B; Goiás – C e D e Distrito Federal – E e F) da região centro-oeste, dados cedidos pelo INMET (2003 a 2011).

Coluna da esquerda: Temperatura média máxima (linha vermelha); temperatura média mínima (linha azul) e Número de dias com precipitação – NDP (Coluna tracejada).

Coluna direita: Umidade média Relativa do Ar (coluna sólida azul) e precipitação média (coluna tracejada). Estado de Mato Grosso sem dados.

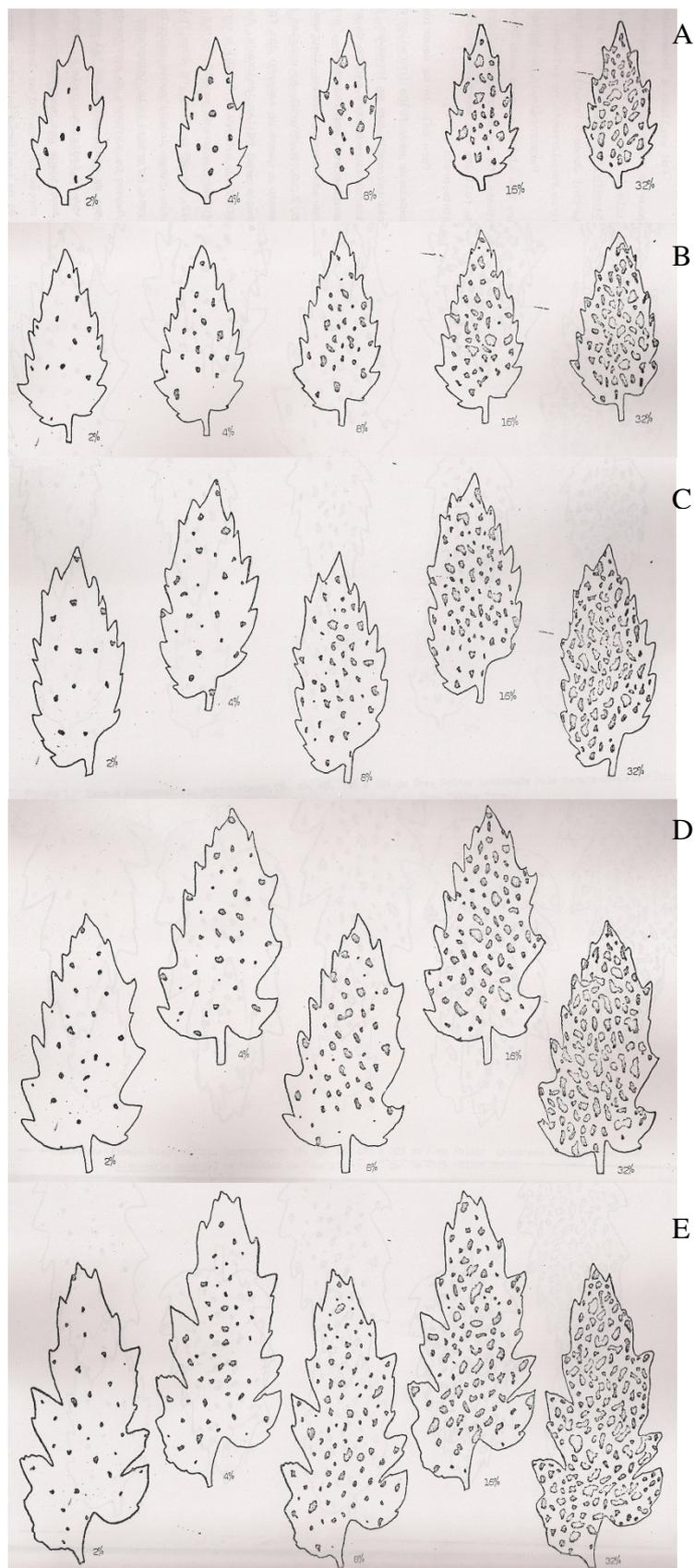


Figura I. 7 Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani*) em folhas de tomateiro (*S. lycopersicum*) (BOFF *et al.*, 1991) nas áreas foliares: 7 cm² (A); 12 cm² (B); 18 cm² (C); 25 cm² (D) e 35 cm² (E).

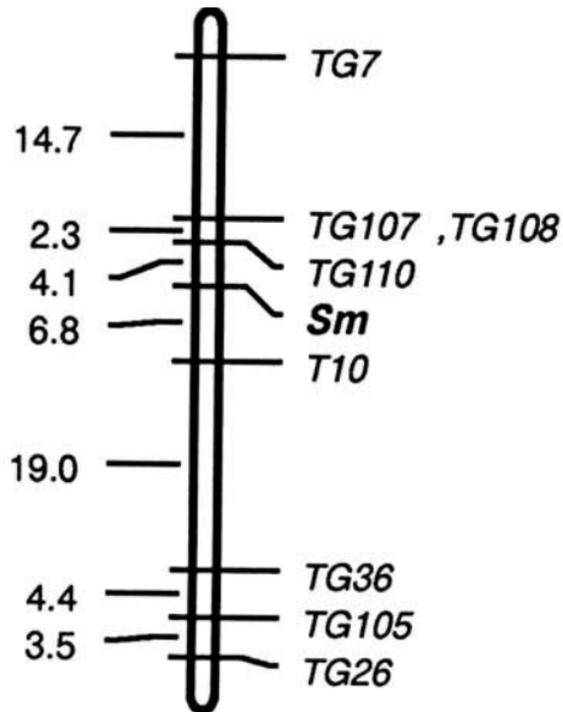


Figura I. 8. Mapa do cromossomo 11. Os centimorgans estão listados a esquerda do mapa. Os marcadores separados por vírgulas mostram não-recombinação (retirado de BEHARE *et al.*, 1991). *Sm.*: gene de resistência a *Stemphylium* sp.

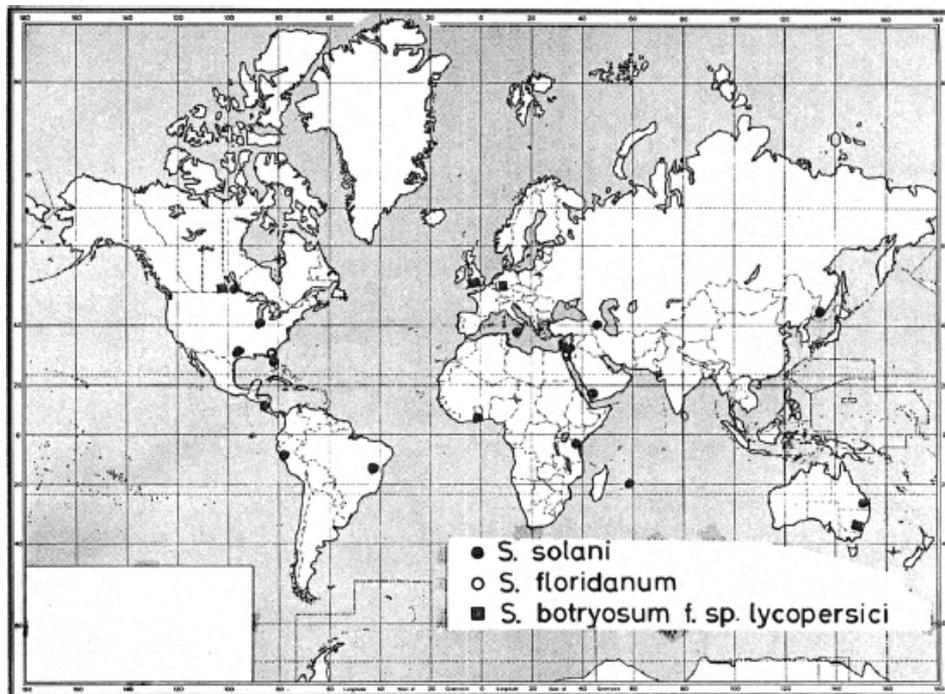


Figura I. 9. Distribuição mundial teórica de *Stemphylium solani*, *S. floridanum* e *S. f.sp. lycopersici*. (ROTEM & BASHI, 1977).

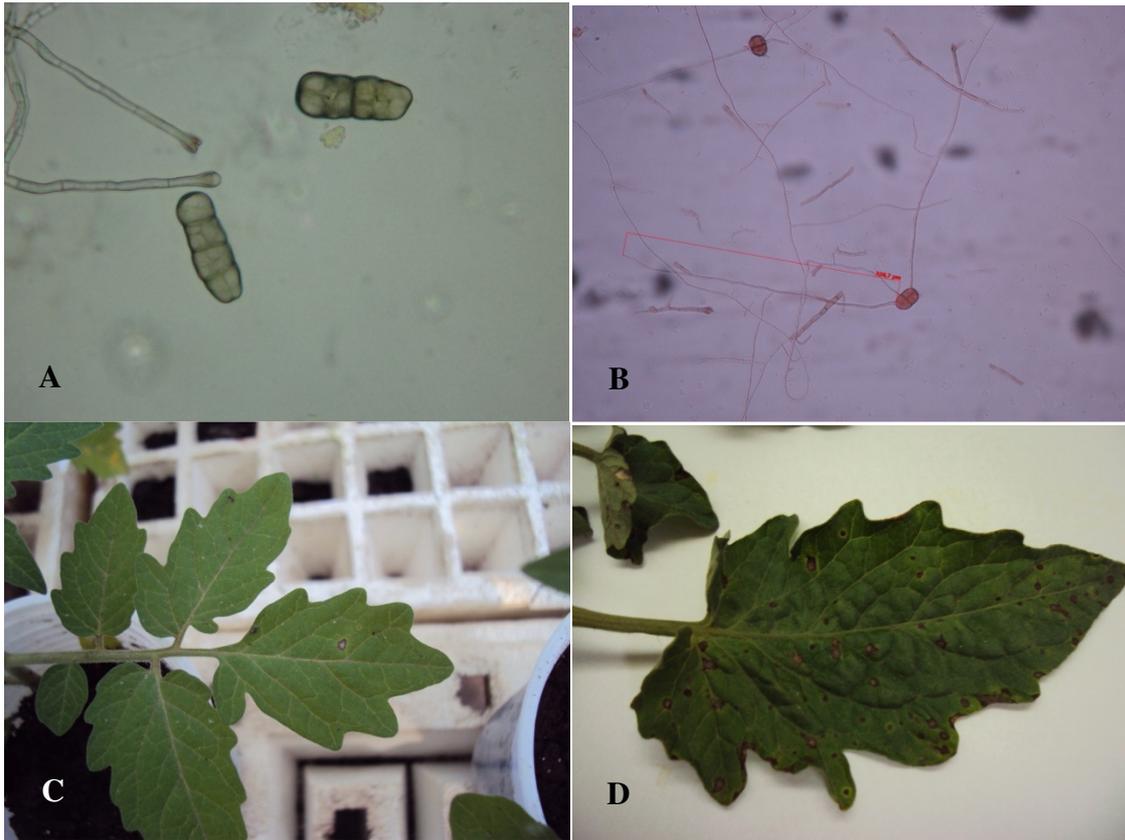


Figura I. 10 Conídio de *Stemphylium solani* (A) e conídio com tubo germinativo emitido (B). Lesão da mancha-de-estenfílio em folha de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) na fase inicial (C) e no folíolo terminal em estágio mais avançado (D).



Figura I. 11 Esquema de montagem do ensaio de germinação: caixas tipo gerbox contendo duas folhas de papel germitest (A), contendo pedaço de isopor (B) para sustentação das lâminas de microscopia onde foram depositadas alíquotas da suspensão fúngica (C). Seropédica-RJ, 2014

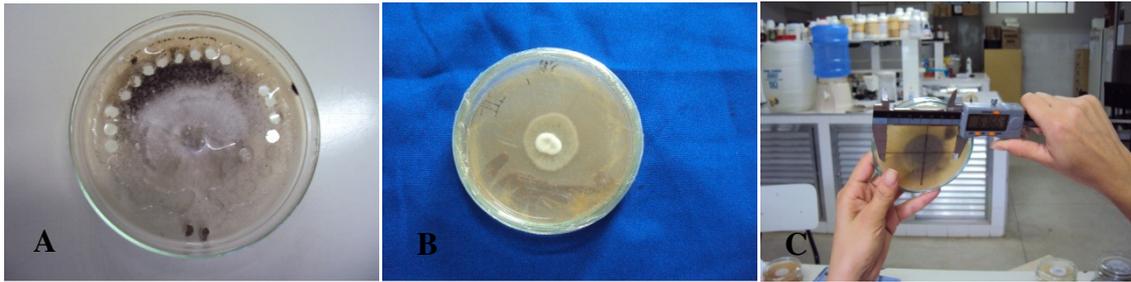


Figura I. 12 Ensaio com crescimento micelial: disco de micélio retirados da borda das colônias de *Stemphylium*, depositados no centro das placas de Petri (B) e medição do diâmetro das colônias (C). Seropédica – RJ, 2014.

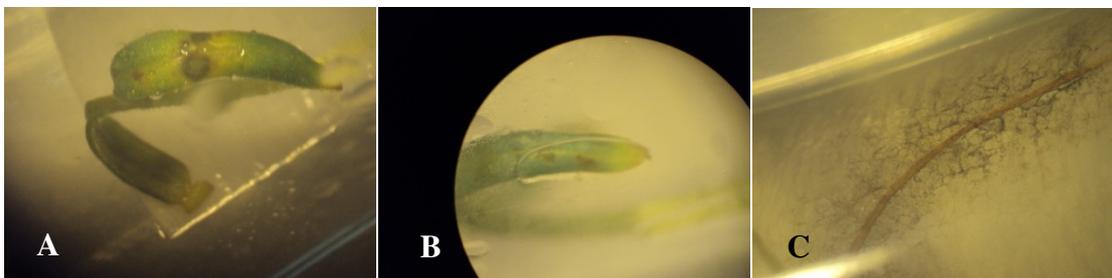


Figura I. 13 Infecção de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em cotilédones de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) mantidos em caixa gerbox (A) e tubos de ensaio (B). Imagem em detalhe da esporulação do fungo em hipocótilo aderido no vidro do tubo de ensaio (C). Seropédica – RJ, 2014.



Figura I. 14 Ensaio com folhas destacadas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) em caixas tipo gerbox (A e B), inoculadas com suspensão conidial de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) nas concentrações de 1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1} (C). Seropédica – RJ, 2014.

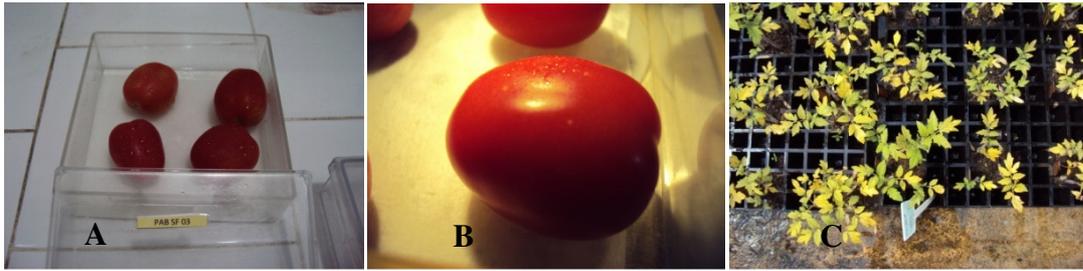


Figura I. 15 Inoculação com diferentes nas concentrações (1×10^3 ; 1×10^4 ; 5×10^4 e 1×10^5 conídios mL^{-1}) de suspensão de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) em frutos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) (A), com fermento (B) e também em plantas cultivadas em bandejas (C). Seropédica – RJ, 2014.

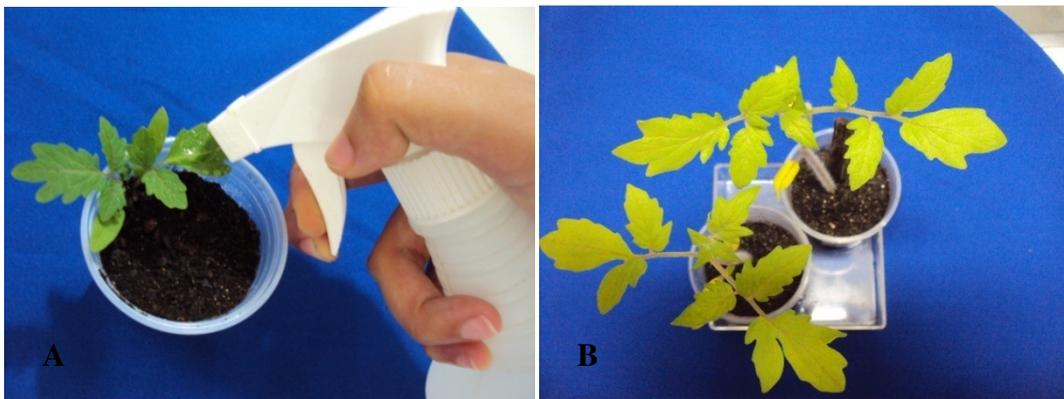


Figura I. 16 Plantas de tomateiro cereja ‘Perinha Água Branca’ inoculadas (A), utilizadas em ensaios em câmara de crescimento (B). Seropédica – RJ, 2014.



Figura I. 17 Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculadas com suspensão na concentração de 10^4 conídios mL^{-1} de *Stemphylium solani* (isolado SENA302) com quatro (A); oito (B) e 16 (C) folhas verdadeiras. Seropédica – RJ, 2014.



Figura I. 18 Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) com três (A); 14 (B) e 19 (C) folhas verdadeiras. Plantio escalonado em casa-de-vegetação com temperatura e umidade relativa controladas. Seropédica – RJ, 2014.



Figura I. 19 Genótipos de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) inoculados com isolado SENA302 de (*Stemphylium solani*), em condições de casa-de-vegetação. Seropédica-RJ, Brasil, 2014. Plantas cultivadas em bandeja (A); em copos (B) e condição de câmara úmida (C).

	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	
	B	1223	1136	1216	1031	1217	1143	1012	PAB	1060	MAS	B
	B	1223	1136	1216	1031	1217	1143	1012	PAB	1060	MAS	B
	B	1223	1136	1216	1031	1217	1143	1012	PAB	1060	MAS	B
bloco 1	B	1223	1136	1216	1031	1217	1143	1012	PAB	1060	MAS	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	PAB	1012	1060	1223	MAS	1031	1216	1217	1136	1143	B
	B	PAB	1012	1060	1223	MAS	1031	1216	1217	1136	1143	B
	B	PAB	1012	1060	1223	MAS	1031	1216	1217	1136	1143	B
bloco 2	B	PAB	1012	1060	1223	MAS	1031	1216	1217	1136	1143	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	1136	1060	1143	1223	1012	MAS	1216	1031	1217	PAB	B
	B	1136	1060	1143	1223	1012	MAS	1216	1031	1217	PAB	B
	B	1136	1060	1143	1223	1012	MAS	1216	1031	1217	PAB	B
bloco 3	B	1136	1060	1143	1223	1012	MAS	1216	1031	1217	PAB	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	1223	1136	1143	PAB	1216	1217	1012	MAS	1031	1060	B
	B	1223	1136	1143	PAB	1216	1217	1012	MAS	1031	1060	B
	B	1223	1136	1143	PAB	1216	1217	1012	MAS	1031	1060	B
bloco 4	B	1223	1136	1143	PAB	1216	1217	1012	MAS	1031	1060	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	1217	1216	1143	1012	1223	MAS	1031	PAB	1136	1060	B
	B	1217	1216	1143	1012	1223	MAS	1031	PAB	1136	1060	B
	B	1217	1216	1143	1012	1223	MAS	1031	PAB	1136	1060	B
bloco 5	B	1217	1216	1143	1012	1223	MAS	1031	PAB	1136	1060	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	1060	PAB	1136	1217	1143	1012	1031	1223	MAS	1216	B
	B	1060	PAB	1136	1217	1143	1012	1031	1223	MAS	1217	B
	B	1060	PAB	1136	1217	1143	1012	1031	1223	MAS	1218	B
bloco 6	B	1060	PAB	1136	1217	1143	1012	1031	1223	MAS	1219	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	MAS	1060	1031	1217	1136	PAB	1223	1216	1143	1012	B
	B	MAS	1060	1031	1217	1136	PAB	1223	1216	1143	1012	B
	B	MAS	1060	1031	1217	1136	PAB	1223	1216	1143	1012	B
bloco 7	B	MAS	1060	1031	1217	1136	PAB	1223	1216	1143	1012	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	B	1143	1223	1217	1060	1136	1012	PAB	MAS	1216	1031	B
	B	1143	1223	1217	1060	1136	1012	PAB	MAS	1216	1031	B
	B	1143	1223	1217	1060	1136	1012	PAB	MAS	1216	1031	B
bloco 8	B	1143	1223	1217	1060	1136	1012	PAB	MAS	1216	1031	B
	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

Figura I. 20 Croqui do experimento em campo. Seropédica-RJ, 1013. B.: Planta ‘Perinha Água Branca’ de Bordadura. (texto em negrito refere-se à localização das lâminas de microscopia para a detecção do conídio de *Stemphylium* sp. nas alturas de do solo).



Figura I. 21 Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) tutoradas verticalmente, conduzidas em uma haste, na safra outono/inverno (A e B), com irrigação de gotejamento (C) e na fase de colheita. E ensaio na safra primavera/verão. Seropédica – RJ, 2014.

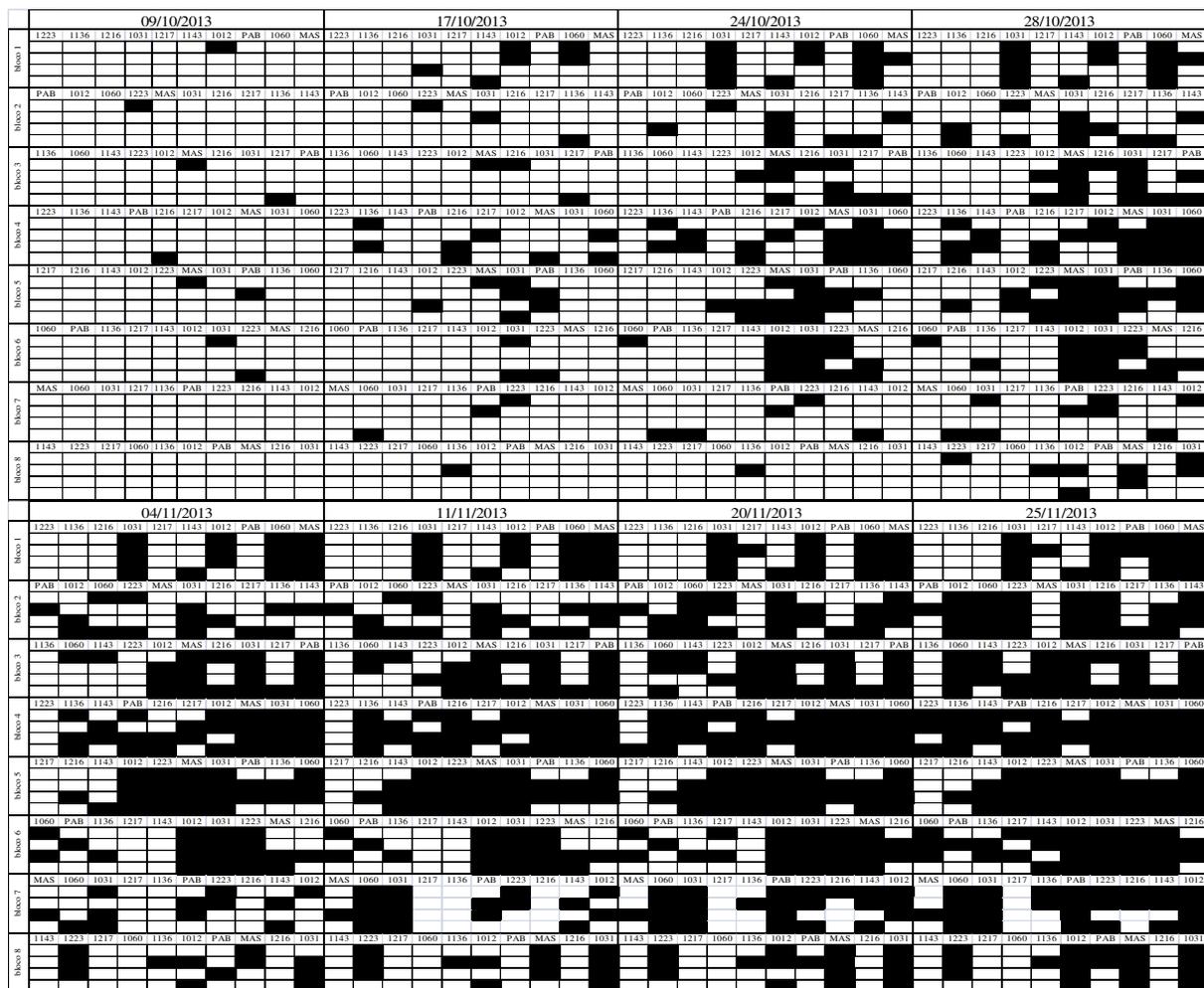


Figura I. 22 Ocorrência de murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) na área do ensaio da safra primavera/verão, quadrados brancos referem-se a plantas saudias e quadrados negros a plantas mortas. Seropédica-RJ, 2014