

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA

R E S I S T Ê N C I A   D E  
*L y c o p e r s i c o n*   S P P.   A  
*S e p t o r i a   l y c o p e r s i c i*   S P E G.

WILSON DIAS MALNATI

Tese apresentada ao Departamento de  
Fitopatologia da Universidade de  
Brasília, como requisito parcial à  
obtenção do Grau de Mestre em  
Ciências, na área de Fitopatologia.

Brasília - DF, 1991.

Trabalho realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária em convênio com o Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob a orientação do professor Francisco Jose Becker Reifschneider, com apoio institucional da Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Aprovado por:

  
Prof. Francisco Jose Becker Reifschneider  
Orientador

  
Prof. Francisco Pereira Cupertino

  
Prof. Jose Carmine Dianese

A Priscila,

Helena e

Mariana, dedico.

## A G R A D E C I M E N T O S

Ao mestre Francisco Jose Becker Reitschneider, pela orientação durante o curso, pela amizade sincera e pelo exemplo de conduta, dedicação e seriedade no trabalho.

Aos professores Francisco Pereira Cupertino e Jose Carmine Dianese pelas sugestões e correções da Tese.

Aos professores do Curso de Mestrado em Fitopatologia pelos ensinamentos.

Aos colegas Engenheiros Agrônomos Alice Kasuko Inoue, Mauro Cavalcante Mesquita Filho, Helber Souto Morgado e Bernardo Jairo Coelho Lima pela participação na execução deste trabalho.

Ao Dr. Jose Amauri Buso pela revisão de parte da tese e pelas orientações nas análises estatísticas.

Ao Dr. Carlos Alberto Lopes pela revisão de parte da tese e pelas sugestões ao longo do desenvolvimento do trabalho.

Ao Dr. Jorge Roland dos Santos pelas sugestões ao longo do desenvolvimento do trabalho.

Ao Sr. Antônio Olímpio pelo auxílio sempre eficiente na execução dos experimentos e aos demais funcionários do Laboratório de Fitopatologia do CNPH.

Aos colegas do mestrado e do estágio no CNPH pela camaradagem.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Em especial aos meus pais, Wilson Malnati e Asthezia Dias Malnati, aos meus sogros, Rinaldo Alves de Souza e Astrogilda Menezes de Souza, e à minha querida tia Semblina Malnati pelo suporte financeiro e incentivo permanentes.

A Sra. Mônica de Souza Malnati, minha esposa, pelo incentivo, pela paciência e pelo carinho com que tem me acompanhado em todos os momentos.

A Deus.

# Í N D I C E

|                                     | Página |
|-------------------------------------|--------|
| Apresentação .....                  | 2      |
| Dedicatória .....                   | 3      |
| Agradecimentos .....                | 4      |
| ÍNDICE .....                        | 6      |
| LISTA DE TABELAS .....              | 9      |
| LISTA DE FIGURAS .....              | 12     |
| <br>I REVISÃO DE LITERATURA         |        |
| 1 - O Hospedeiro                    |        |
| 1.1. Importância .....              | 17     |
| 1.2. Taxonomia e Filogenia .....    | 18     |
| 1.3. Melhoramento .....             | 20     |
| 2 - O Patógeno                      |        |
| 2.1. Descrição .....                | 23     |
| 2.2. Variabilidade .....            | 24     |
| 3 - A Doença                        |        |
| 3.1. Descrição .....                | 25     |
| 3.2. Perdas .....                   | 27     |
| 4 - A Resistência                   |        |
| 4.1. Metodologia de Avaliação ..... | 29     |
| 4.2. Fontes de Resistência .....    | 30     |
| 4.3. Herança da Resistência .....   | 32     |
| 5 - Considerações Finais .....      | 34     |

## II METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE

*Lycopersicon* SPP. 'A *Septoria lycopersici* SPEG.

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| 1 - Abstract .....                                           | 48 |
| 2 - Resumo .....                                             | 48 |
| 3 - Introdução .....                                         | 49 |
| 4 - Material e Métodos .....                                 | 54 |
| 4.1. Produção de Conídios em Meio Líquido .....              | 56 |
| 4.2. Concentração de Inóculo .....                           | 58 |
| 4.3. Métodos de Inoculação .....                             | 59 |
| 4.4. Estádio de Plântulas e Parâmetros de<br>Avaliação ..... | 60 |
| 5 - Resultados e Discussão                                   |    |
| 5.1. Produção de Conídios em Meio Líquido .....              | 62 |
| 5.2. Concentração de Inóculo .....                           | 62 |
| 5.3. Métodos de Inoculação .....                             | 63 |
| 5.4. Estádio de Plântulas e Parâmetros de<br>Avaliação ..... | 64 |
| Apendice A - Conservação do Inóculo .....                    | 67 |

## III VIRULÊNCIA DE ISOLADOS DE *Septoria lycopersici* SPEG. EM *Lycopersicon* SPP.

|                    |    |
|--------------------|----|
| 1 - Abstract ..... | 75 |
| 2 - Resumo .....   | 76 |

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 3 - Introdução .....             | 77 |
| 4 - Material e Métodos .....     | 78 |
| 5 - Resultados e Discussão ..... | 81 |

#### IV AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE *Lycopersicon* SPP. A *Septoria lycopersici* SPEG.

|                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1 - Abstract .....                                                             | 93  |
| 2 - Resumo .....                                                               | 94  |
| 3 - Introdução .....                                                           | 95  |
| 4 - Material e Métodos .....                                                   | 97  |
| 4.1. Avaliação de Introduções de <i>Lycopersicon</i> spp. ....                 | 98  |
| 4.2. Avaliação de Populações Oriundas do Padrão<br>Resistente (CNPH 416) ..... | 99  |
| 5 - Resultados e Discussão .....                                               | 100 |

|              |     |
|--------------|-----|
| RESUMO ..... | 122 |
|--------------|-----|

|               |     |
|---------------|-----|
| SUMMARY ..... | 124 |
|---------------|-----|

|                         |     |
|-------------------------|-----|
| LITERATURA CITADA ..... | 126 |
|-------------------------|-----|



# L I S T A   D E   T A B E L A S

Página

|                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 1. Produção, Área Colhida e Produtividade de tomate e crescimento relativo no Brasil e por região, de 1968 a 1988. .... | 38 |
| TABELA 2. Espécies do gênero <i>Lycopersicon</i> reconhecidas até 1987, segundo Warnock (1988). ....                           | 40 |
| TABELA 3. Espécies selvagens de <i>Lycopersicon</i> usadas no melhoramento do tomate cultivado. ....                           | 41 |
| TABELA 4. Situação da produção de tomate no mundo (destaques) (FAO, 1988). ....                                                | 42 |
| TABELA 5. Métodos de produção de inóculo de <i>Septoria lycopersyci</i> Speg. ....                                             | 43 |
| TABELA 6. Métodos de inoculação de <i>Septoria lycopersici</i> Speg. em tomateiro para a avaliação da resistência. ....        | 44 |

|                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABELA 7. Estádios fenológicos das plântulas de tomate na inóculoção de <i>Septoria lycopersici</i> Speg., épocas e critérios de avaliação da resistência. ....                       | 45 |
| TABELA 8. Avaliações de germoplasma de <i>Lycopersicon</i> para a identificação de fontes de resistência à <i>Septoria lycopersici</i> Speg. ....                                     | 46 |
| TABELA 9. Produção de conídios de <i>Septoria lycopersici</i> Speg. em meio líquido, em diferentes épocas de coleta. Média de três repetições ( $\times 10^4$ esporos/ml). ....       | 69 |
| TABELA 10. Efeito da concentração de inóculo de <i>Septoria lycopersici</i> Speg., sob diferentes parâmetros de avaliação da resistência de tomateiro. Média de três repetições. .... | 70 |
| TABELA 11. Efeito de métodos de inoculação de <i>Septoria lycopersici</i> Speg. em tomateiro, sob diferentes parâmetros de avaliação. Médias de 6 repetições. .                       | 71 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TABELA 12. Efeito de estágio fenológico de plântulas de tomate na época de inoculação, sob diferentes parâmetros, na avaliação da resistência à septoriose. Médias de três repetições do primeiro experimento. ....                                                | 72  |
| TABELA 13. Estádios fenológicos de plântulas de tomate e parâmetros para avaliação da resistência à septoriose. Médias de quatro repetições do segundo experimento. ....                                                                                           | 73  |
| TABELA 14. Materiais e métodos dos experimentos de avaliação da resistência de genótipos de <i>Lycopersicon</i> spp. a septoriose. ....                                                                                                                            | 118 |
| TABELA 15. Descrição das introduções de <i>Lycopersicon</i> spp. avaliadas quanto à resistência à septoriose. ...                                                                                                                                                  | 119 |
| TABELA 16. Avaliação da resistência de genótipos de tomate à septoriose. Geração F <sub>2</sub> da progênie de <i>Lycopersicon esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Dun.) Gray (CNPH 353) e <i>L. hirsutum</i> Humb. & Bonpl. (CNPH 416). (Experimento 4). .... | 121 |

# L I S T A   D E   F I G U R A S

Página

- FIGURA 1. Folha de tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill com sintoma típico de septoríose, aos 12 dias após a inoculação de *Septoria lycopersici* Speg. .... 36
- FIGURA 2. Diâmetro das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com seis isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de três repetições. .... 84
- FIGURA 3. Número de picnídios das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com seis isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de três repetições. .... 86
- FIGURA 4. Número de picnídios das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com cinco isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de quatro repetições. .... 88

- FIGURA 5. Número de picnídios das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com quatro isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de quatro repetições. .... 90
- FIGURA 6. Esquema de cruzamentos do programa de incorporação da resistência à septoriose de *Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. (CNPH 416) em tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill. .... 104
- FIGURA 7. Avaliação da resistência de dez introduções de tomate à septoriose através do número de picnídios das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 1). Média de cinco repetições. .... 106
- FIGURA 8. Avaliação da resistência de dezoito genótipos de tomate à septoriose através do número de picnídios das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 2). Média de seis repetições. .... 108

- FIGURA 9. Avaliação da resistência de dezenove genótipos de tomate 'a septoriose através da concentração de conídios no lavado das folhas. (Experimento 2). Média de seis repetições. .... 110
- FIGURA 10. Avaliação da resistência de vinte e quatro introduções de tomate 'a septoriose através do número de picnídios das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 3). Média de três repetições. 112
- FIGURA 11. Avaliação da resistência de vinte e quatro introduções de tomate 'a septoriose através do diâmetro (mm) das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 3). Média de três repetições. .... 114
- FIGURA 12. Distribuição dos genótipos de *Lycopersicon* estudados neste trabalho quanto 'a resistência 'a septoriose. Classificação feita com base nos comportamentos dos padrões resistente (CNPH 416) e suscetível (CNPH 507), em cada experimento, pelo critério do número de picnídios por lesão. .... 116

# C A P Í T U L O   I

## REVISÃO DE LITERATURA

"Nenhum outro alimento (...) pode se orgulhar de sua abrangência multinacional, de sua inabalável universalidade como o trivial tomate. Sim, trivial, e ao mesmo tempo belo, vibrante, disponível e sensual."

Silvio Lancelotti (1989).



## 1 - O HOSPEDEIRO

### 1.1. Importância

Para uma necessidade anual de ácido ascórbico (vitamina C) avaliada em 1.100 toneladas em 1982 para o Brasil, as 1,737 milhões de toneladas de tomate produzidas aqui, no mesmo ano, forneceram mais de 36% desta demanda (Cobbe, 1983). Além da vitamina C, o tomate constitui-se numa das principais fontes de outras vitaminas e sais minerais. Filgueira (1982) constatou na matéria seca do fruto (6% em média) cerca de 3,5% de carboidratos, 1% de proteínas e 0,2% de gorduras. Em 100 g de frutos maduros encontrou: 9 a 18 mg de cálcio, 18 a 34 mg de fósforo e 0,8 a 1,7 mg de ferro. Foram os seguintes os teores de vitaminas: pró-vitamina A de 735 a 1.100 U.I.; tiamina de 50 a 60 ug; Riboflavina cerca de 40 ug; ácido ascórbico de 20 a 40 mg e Niacina de 0,5 a 0,6 mg.

A produção de tomate no Brasil tem aumentado ano a ano (IBGE, 1969; IBGE, 1979; IBGE, 1989). Tem-se observado uma expansão da cultura para áreas novas como o Vale do São Francisco e o Planalto Central (Tabela 1). Esta expansão tem sido feita principalmente com o tomate industrial, de porte determinado e cultivado semi-extensivamente, ocupando mais de 40% dos 55 mil hectares plantados no Brasil em 1987 (ABRAI, 1989).

## 1.2. Taxonomia e Filogenia

Linnaeus designou o tomateiro como *Solanum lycopersicum*. Miller em 1754 separou-o do gênero *Solanum* e usou a palavra grega *Lycopersicon* para designar o novo gênero. O 14º Congresso Internacional de Botânica, em Berlim, 1987, consagrou o nome *Lycopersicon esculentum* Miller para o tomateiro, em detrimento de *L. lycopersicum* (L.) Karsten (Warnock, 1988).

A origem do tomateiro cultivado (*L. esculentum* Miller, 1754) parece estar no México (Rick & Butler, 1956 in Minami & Haag 1979; Monaco, 1964 in Minami & Haag 1979) ou entre Puebla e Vera Cruz (Jenkins, 1948: in Minami & Haag 1979). O certo é que, à época do descobrimento da América, o jitomate dos astecas estava amplamente difundido nas Américas Central e do Sul.

Este jitomate era provavelmente *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (Dunal) Gray 1986, tido como ancestral direto do tomateiro cultivado principalmente devido ao seu tamanho e forma (Minami & Haag, 1979). Mais recentemente, baseados em análises de DNA de cloroplastos e mitocôndrias, estudos de morfologia e compatibilidade sexual, alguns autores sugerem uma filogenia que segue de um ancestral pré-*Lycopersicon* para *L. peruvianum*, *L. hirsutum*, *L. esculentum* var. *cerasiforme* para finalmente chegar ao tomateiro domesticado (Warnock, 1988).

Essas espécies acima mencionadas, assim como as outras que atualmente compõem o gênero *Lycopersicon*, segundo Rick 1977, são nativos do Noroeste da América do Sul e do Arquipélago das Ilhas Galápagos. São encontradas em pequenos vales de riachos que correm da encosta oeste dos Andes em direção à costa do Oceano Pacífico e na região central dos Andes, isolada da costa oeste, onde nascem vários tributários do Rio Amazonas (Warnock, 1988). A grande variação dos habitats que compõem a região associa-se com a enorme variação dentro e entre as espécies do gênero que se adaptaram a condições que variam de desérticas à super-úmidas, do calor tropical ao frio das regiões acima de 3.000 metros de altitude ou, ainda, aos solos salinos das praias da Ilha Isabela, Galápagos (Rick, 1977).

Na revisão do gênero, Muller (1940) reconheceu seis espécies subdivididas em dois subgêneros. O subgênero *Eulycopersicon* agrupava as espécies mais assemelhadas com o tomateiro cultivado, com frutos vermelhos (*L. esculentum* e *L. pimpinellifolium*.) enquanto o subgênero *Eriopersicon* reunia os tomate verdes, brancos e amarelos. Luckwill, em 1943 (Warnock, 1988), reconheceu 7 espécies e manteve os subgêneros. Mais recentemente, nove espécies foram reconhecidas e aboliu-se os subgêneros (Tabela 2).

Além das variações morfológicas entre e dentro das espécies de *Lycopersicon* há ainda uma variação de características

fisiológicas. Isso representa um potencial astronômico para o melhoramento da cultura, pois apesar de algumas dificuldades, as espécies apresentam diferentes graus de compatibilidade nos cruzamentos entre si. Vários são os autores que recomendam o uso de espécies selvagens no melhoramento do tomateiro, principalmente na transferência de gens de resistência a pragas e doenças, como indica a Tabela 3 (Alexander et al., 1942; Doolittle, 1954; Walter, 1967; Weeb et al., 1971; Rick, 1977; Nagai, 1984; Maluf, 1985).

### 1.3. Melhoramento

As diferenças de produtividade entre os diversos países (Tabela 4), tem mostrado a necessidade de cultivares mais bem adaptados às condições ecológicas brasileiras, assim como aos sistemas de produção adotados no país. Produtividades como a da Holanda e da Dinamarca, de mais de 250 toneladas por hectare, tem um componente genético não desprezível (FAO, 1988).

O aparecimento de populações de patógenos e pragas que "quebram" a resistência incorporada nas cultivares tem forçado uma reflexão sobre a durabilidade da resistência em relação ao esforço e tempo necessários para incorporá-la. Isso faz necessária uma análise das interações patógeno-hospedeiro (tipo da resistência), da variabilidade e mobilidade do patógeno, da variabilidade e compatibilidade dos cultivares com as fontes de resistência (cruzamentos interespecíficos) e da distribuição

temporal e espacial da cultura, entre outros aspectos, para se definir a viabilidade da inclusão da resistência nos programas de controle da praga ou da doença. E, em sendo viável, é necessário definir a estratégia de incorporação da resistência compatível com a herança genética (Van der Graaff, 1979; Simmonds, 1983).

Um problema nos programas de incorporação de resistência genética a doenças e que tem ocorrido particularmente com os de pinta-preta (*Alternaria solani* Sorauer) e septoriose (*Septoria lycopersici* Speg.) é que parte da resistência encontrada nos progenitores é perdida nas gerações avançadas dos programas (Walter, 1967). Sabe-se que no caso de *A. solani* a determinação da herança da resistência, considerada monogênica simples (Reynard & Andrus, 1945; Barksdale & Stoner, 1973; Barksdale & Stoner, 1977; Datar & Lowkan, 1985; Gardner, 1988), resultou na execução de estratégias inadequadas para a incorporação da resistência. Recentemente, demonstrou-se que a herança da resistência de diversas linhas de tomateiro à *A. solani* é quantitativa (Barksdale & Stoner, 1977; Nash & Gardner, 1988) com controle genético aditivo e epistasia (Maiero et al., 1990).

No caso específico da septoriose, além da ausência de um nível razoável de resistência dentro da espécie *L. esculentum*, também o aparecimento de fungicidas como maneb, captafol e chlorothalonil contribuiu para essa paralização dos programas de resistência (Tu & Poysa, 1990).

No entanto, nos últimos anos, tem-se acompanhado o aparecimento de populações de patógenos e pragas resistentes aos agrotóxicos, implicando o uso mais frequente e/ou em doses mais elevadas dos produtos e/ou a troca por formulações mais caras para o controle dos mesmos. Os casos da traça do tomateiro (*Scrobipalpula absoluta*) em relação ao cartap, no nordeste brasileiro, e do metalaxil para o controle de *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary (Davidse et al., 1983 in Georgopoulos & Skylakakis, 1986) são exemplos típicos desta situação. A ineficiência dos produtos e a conscientização da sociedade para os perigos que o uso, principalmente o abuso, e a aplicação errada dos agrotóxicos representam para os produtores, consumidores e para o meio ambiente tem estimulado uma retomada e aceleração de antigos programas de melhoramento, bem como o surgimento de novos projetos tanto no exterior como no Brasil (Nash & Gardner, 1988; Tu & Poysa, 1990; Maiero et al., 1990; EMBRAPA/PNPH 1990, Welington Pereira, comunicação pessoal).

## 2 - O PATÓGENO

### 2.1. Descrição

O agente causal da septoriose, descrito por Spegazzini em 1882, é o fungo *Septoria lycopersici* (Endrinal & Relino, 1940). Segundo Viegas (1962), foi Levin em 1916 o primeiro a demonstrar a patogenicidade deste fungo de acordo com o postulados de Koch. Este fungo apresenta picnídios imersos, globosos, cor marron escura ou amarela mel, com 75 a 200  $\mu$  de diâmetro; as paredes são multicelulares, compostas por uma camada externa de células pseudoparenquimáticas grandes mas finas e uma região interna de pequenas células hialinas formando pseudoparenquima; o ostiolo pode ser circular ou irregular e largo, maior que 50  $\mu$  de diâmetro. Os picnósporos são hialinos, filiformes com 2 a 6 septos, ápice acutado, base truncada a obtusa (52-92 x 2  $\mu$ ) formados em células conidiogênicas ampuliformes, com conidiogênese holoblástica simples, sem proliferação simpodial ou percurrência (Sutton & Waterston, 1966; Sutton, 1980). Por estas características, foi classificado na ordem Sphaeropsidales, classe dos Coelomicetos, subdivisão Deuteromicotina, divisão Eumicota (Viegas, 1962; Burnett & Hunter, 1972) e, numa classificação mais moderna, dentro da família Blastopicnidiineae, ordem Blastales, subclasse Holoblastomycetidae, classe Blastodeuteromycetes (Sutton, 1980).

## 2.2. Variabilidade

Para estudar a especialização fisiológica deste fungo, Macneill (1950a,b) testou diversos isolados dos EUA e do Canadá em diversas espécies do gênero *Lycopersicon* e de gêneros correlatos (*Solanum*, *Datura*, *Physalis*). Não encontrou reações diferenciais em nenhum deles. No entanto, para as populações derivadas de "Targinnie Red", os testes mostraram diferenças no tamanho das lesões e na agressividade geral. Dois tipos extremos de reação foram observados: o primeiro consistia de infecção pesada, com lesões médias e o segundo de infecção leve, com lesões pequenas. Os dois isolados que provocaram reações diferentes nos materiais resistentes apresentaram diferenças quantitativas quando inoculados em genótipo suscetível ("Bonny Best"). No entanto, devido a presença de materiais com reações intermediárias, não foi possível separá-los em grupos de reações. Também não houve quebra de resistência dos materiais avaliados, já que mesmo com o isolado mais virulento ainda foi possível notar a tendência do material em restringir o tamanho das lesões.

Cook (1954), testando 8 isolados regionais sobre várias espécies do gênero *Lycopersicon*, encontrou diferenças significativas no tamanho médio das lesões produzidas pelos diferentes isolados. No entanto, a variação dos isolados foi semelhante entre os 42 materiais hospedeiros testados, embora seus dados não tenham sido consistentes em todos os testes realizados.



Os dados obtidos por Kurozawa (1972) confirmaram a variabilidade do fungo quanto a agressividade de diferentes isolados. Não houve interações com variedades do hospedeiro, concordando com os autores citados acima. Ele mostrou, ainda, a diferença de agressividade entre dois sub-isolados de um mesmo isolado (S-111) que apresentavam variações morfológicas e fisiológicas das colônias em meio de cultura. Kurozawa & Balmer (1977a) não encontraram diferença na virulência entre conídios e "conídios secundários" (estes últimos são produzidos fora dos picnídios, sob condições nutricionais desfavoráveis).

### 3 - A DOENÇA

#### 3.1. Descrição

A septoriose do tomateiro foi primeiramente relatada na Argentina, em 1882, por Spegazzini (Endrinal & Relino, 1940; Viegas, 1962). A partir de então, a doença foi sendo relatada em todas as regiões produtoras do mundo, sendo considerada hoje como uma doença cosmopolita (Sutton & Walterston, 1966; Tokeshi & Carvalho, 1980; CMI, 1982). Sob condições favoráveis para o patógeno, alta umidade e temperaturas médias variando entre 22 a 26 °C, esta doença adquire importância, principalmente pela dificuldade de controle (Andrus & Reynard, 1945; Lincoln &

Cummins, 1949; Macneill, 1950a,b; Cook, 1954; Kurozawa & Balmer, 1977a; Maluf et al., 1985). No Brasil sua ocorrência é generalizada, apresentando danos maiores em regiões e épocas quentes e úmidas, como as encontradas no DF onde a doença tem ocorrido regularmente com importância (Maluf et al., 1985).

A doença ataca folhas, caule e cálices, mas raramente frutos. Nas folhas, as lesões se apresentam inicialmente como pontuações negras (Endrinal & Relino, 1940) ou cloróticas (Macneill, 1950a,b,) que se desenvolvem formando manchas circulares de bordos escuros com cerca de 3 mm de diâmetro com ou sem halo clorótico em volta (Figura 1). Sob condições de campo, este tamanho pode dobrar ou triplicar. A parte interna da lesão se apresenta, nas plantas suscetíveis, com cor clara e pontuações negras (a partir do 8º dia após a inoculação), que são os picnídios, distribuídas internamente, enquanto nos materiais resistentes a parte interna permanece escura com menos pontuações, e as existentes são menos evidentes. As lesões, ao se desenvolverem, podem se coalescer e formar extensas áreas necróticas até provocar a queda da folha. No caule e nos cálices os sintomas costumam ser menos severos, com lesões menores, mais alongadas, menos definidas e com menos picnídios (Endrinal & Relino, 1940; Macneill, 1950a,b; Tokeshi & Carvalho, 1980). Pritchard & Porte (1924) determinou a faixa de temperatura para o crescimento do fungo de 1,6° C a 34,4° C, com um ótimo a 25° C. Para a esporulação, a faixa ficou entre 15° C e 27° C, com um ótimo a 25° C.

A penetração do fungo na planta foi relatada como sendo através dos estômatos (Endrinal & Relino, 1940), embora haja relatos anteriores de penetração direta (Chupp, 1925, in Endrinal & Relino, 1940). A transmissão da doença pode ocorrer por respingos de água, através de restos de cultura deixados no campo, através de insetos, através de pessoas que manipulam a cultura ou através de sementes (Martin, 1918; Sutton & Waterston, 1966). A sobrevivência dos esporos em folhas secas pode chegar a 6 meses, mas em restos culturais e hospedeiras alternativas pode permanecer de uma estação para outra. As plantas que se mostraram suscetíveis ao fungo são a berinjela (*Solanum melongena* L.), a batata (*S. tuberosum* L.), *Datura tatula* Linn, *Solanum carolinense* Linn, *Datura stramonium* L., *Solanum nigrum* L., espécies selvagens de *Lycopersicon* (Endrinal & Relino, 1940; MacNeill, 1950; Sutton & Waterston, 1966), *Solanum floridanum* Sendt., *Solanum mammosum* L., *Physalis* sp., *Cyphomandra* sp. e *Petunia* sp. (Viêgas, 1962).

### 3.2. Perdas

Desde que foi relatada nos EUA, em 1896, até os dias de hoje, a septoriose tem sido relatada como uma das principais doenças do tomateiro em períodos chuvosos, períodos com orvalho frequente ou quando se usa irrigação por aspersão (Endrinal & Relino, 1940; Tu & Poysa, 1990). Perdas totais foram relatadas na Inglaterra em 1907 e 1908. Pritchard & Porte (1924) estimaram uma

perda anual de 250 mil toneladas de tomate nos EUA devido à septoriose. Estes autores associaram perdas de mais de 20%, devidas a septoriose, às regiões com temperaturas médias mensais ao redor de 25° C, ótima para o fungo. Lincoln & Cummins (1949) calcularam que, em anos de epidemia, a desfolha do tomateiro pode chegar a 80% das folhas, causando não apenas uma redução da fotossíntese como também a diminuição da qualidade dos frutos pela queimadura do sol. Na Índia, segundo Sohi & Sokhi (1973), a desfolha causada pela septoriose tem sido total, causando o completo fracasso da cultura nas regiões de elevações médias de Himachal Pradesh.

Nos testes de agrotóxicos para controlar a doença, os melhores tratamentos chegaram a aumentar a produção em mais de 50% em relação a testemunha (Erinle et al., 1986; Tedla, 1985; Bueno & Rossi, 1989).

Barksdale & Stoner (1978) afirmaram que a importância da septoriose decresceu na segunda metade deste século devido a adoção de fungicidas orgânicos. Associadas à redução gradual das pulverizações, desde 1972, tem voltado a aparecer quebras de safras esporádicas associadas à doença. Isto justificou a inclusão da septoriose no programa de resistência múltipla do JSDA, EUA.

## 4 - A RESISTÊNCIA

### 4.1. Metodologia de Produção de Inóculo, Inoculação e Avaliação

Há uma diversidade muito grande de metodologias para inoculação e avaliação dos materiais registrados na literatura. A Tabela 5 apresenta os diferentes métodos usados para produção de inóculo. Para pequenos ensaios em casa-de-vegetação, a produção em meio de BDA tem sido suficiente, e a mais usada ultimamente (Tu & Poysa, 1990; Echim et al., s.d.). Já nos ensaios de campo realizados por Barksdale (1982) foi usado meio de farinha de milho e agar. No entanto, para a conservação de coleções do patógeno poucos dados estão disponíveis na literatura. Kurozawa (1972) cita a conservação em tubos inclinados com BDA por 3 a 4 meses.

Na maioria dos trabalhos utilizou-se a inoculação das plantas através da pulverização de suspensão de esporos em água. Várias concentrações de inóculo, horas de câmara úmida e métodos de deposição do inóculo tem sido utilizados (Tabela 6). Tu & Poysa (1990) estudaram algumas destas variáveis e concluíram que o pincelamento de uma suspensão a uma concentração de  $10^6$  esporos por ml, câmara úmida de 48 horas e fotoperíodo de 14 horas eram as melhores condições para a inoculação na avaliação dos materiais para a resistência à *Septoria lycopersici*. Kurozawa

(1972) encontrou a concentração de  $2 \times 10^4$  esporos por ml como sendo a melhor.

Também diversos estádios de plantas foram usados na inoculação (Tabela 7). Kurozawa (1972), que comparou diferentes idades de plântulas e diferentes posições de folhas, achou as plântulas aos 22 dias mais suscetíveis que plântulas mais velhas de até 50 dias. As manchas na 3ª folha foram significativamente maiores do que na 4ª e na 5ª folha.

Os critérios utilizados na avaliação da resistência tem variado de autor para autor. Porém, parece haver uma tendência atual para o uso de parâmetros quantitativos, como a área foliar lesionada, o diâmetro das lesões ou o número de picnídios por lesão, ao invés de critérios qualitativos, como o tipo de lesão, que foram utilizados nos primeiros trabalhos. As avaliações foram feitas, geralmente, entre o 7º e o 21º dia após a inoculação (Tabela 7). A melhor época de avaliação foi aos 14 dias após a inoculação (Kurozawa, 1972).

#### 4.2. Fontes de Resistência

Desde os primeiros trabalhos buscando fontes de resistência em *L. esculentum* à septoriose (Alexander, 1935; Andes, 1939), nenhuma cultivar foi encontrada com um nível satisfatório de resistência. Apenas uma planta da cultivar australiana "Targinnie Red", provavelmente originária de

cruzamento natural com espécie não *esculentum*, mostrou-se resistente e foi usada nos trabalhos de Andrus & Reynard (1945). As fontes de resistência estão entre as espécies selvagens de tomateiro originárias dos Andes, na América do Sul (Alexander & Hoover, 1955; Alexander, 1959) (Tabela 8).

Na literatura há, no entanto, algumas discordâncias quanto à resistência dos materiais testados. Locke (1949) reportou como resistentes os PI 126449, PI 127827 e PI 134418, enquanto Lincoln & Cummins (1949) os classificou como suscetíveis. O PI 128285 tido como resistente por Butler (1938) foi dado como suscetível por Alexander et al. (1942). Este último autor classificou os PI 126925 e PI 126952 como suscetíveis, enquanto Locke (1949) os citou como resistentes. Em trabalhos mais recentes, outros resultados conflitantes foram apresentados. Kurozawa (1972) não encontrou diferença significativa entre as introduções PI 127826 e PI 127827, ambos *L. hirsutum* Humb. & Bonpl., e as variedades de *L. esculentum* Mill. Maluf (1985) relatou as duas primeiras introduções como resistentes.

Cook (1954) atribuiu a variação na virulência dos isolados como uma das causas destas distintas avaliações. Outra causa seria a variação nos materiais testados, fato não comprovado na literatura. Resta, ainda, a hipótese de que possa ter havido diferentes respostas às diferentes metodologias de avaliação empregadas pelos diferentes autores (Maluf, 1985).

#### 4.3. Herança da Resistência

Concordando com as primeiras observações de Locke (1942), Andrus & Reynard (1945) relatou a herança da resistência como monogênica dominante simples e sugeriu a denominação de Se para o gen da resistência, embora houvessem alguns desvios significativos desta hipótese em algumas populações do hospedeiro testadas. Com base em observações de campo, Lincoln e Wright (in Andrus & Reynard, 1945) descreveram como recessiva a resistência dos seus materiais resultantes de cruzamentos de *L. esculentum* Mill. com *L. peruvianum* var. *humifusum* (C.H. Mull.). Mais tarde, no entanto, foi admitida pelos próprios autores a hipótese de mistura de materiais neste trabalho (Lincoln & Cummins, 1949). As plantas testadas no campo apresentaram a mesma reação dos testes em casa-de-vegetação, no entanto, na primeira condição, as lesões das folhas basais dos materiais resistentes podem chegar a se desenvolver e formar alguns picnídios. Isto pode levar a se classificar no campo como suscetíveis materiais tidos como resistentes em laboratório (Andrus & Reynard, 1945).

Lincoln & Cummins (1949) testaram a herança de três fontes de resistência e encontraram semelhança nas reações das progênies de todas elas. Conseguiram, ainda, determinar que o fator de resistência do PI 126445 (*L. hirsutum*) era idêntico ao da seleção de "Targinnie Red". As análises da segregação das gerações  $F_1$ ,  $F_2$  e dos retrocruzamentos com materiais suscetíveis, como progenitores recorrentes, indicaram que a herança era



dominante simples. Porém, após seis gerações de retrocruzamentos, o nível de resistência encontrado nas gerações avançadas era menor do que a resistência dos progenitores resistentes.

As mesmas observações de diminuição do nível de resistência foram levantadas por Macneill (1950a,b). Este autor também aventou a hipótese da presença de gens modificadores ligados a herança da resistência.

Barksdale et al. (1978) testaram, entre outros materiais, 34 introduções de tomateiros de frutos vermelhos originárias das encostas do lado leste dos Andes do Equador e do Peru e encontraram 3 materiais resistentes. A herança da resistência de um destes materiais, PI 422397 (*L. pimpinellifolium*), foi determinada como sendo monogênica dominante, mas reações intermediárias de resistência foram observadas em outras linhagens trabalhadas. Nos materiais resistentes foram produzidas lesões com menos picnídios e menos esporos por folha. Estes dados indicavam a possibilidade da resistência selecionada em casa-de-vegetação evitar desfolhas severas no campo, fato parcialmente confirmado mais tarde por Barksdale (1982). Devido as diferenças observadas no campo entre materiais resistentes, Barksdale (1982) recomendou o uso de parcelas no campo conjuntamente aos testes de laboratório nos programas de melhoramento.

## 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo Lincoln & Cummins (1949), o tipo de resistência (parcial) incorporado nos cultivares permitiria a infecção pelo fungo, o que, baseado nos trabalhos de Wellhausen, Lincoln e Mills (in Lincoln & Cummins, 1949), poderia proporcionar condições para a seleção e aumento da população de biótipos mais virulentos do patógeno. Também Doolittle (1954) partilhou desta opinião, embora ninguém tenha apresentado evidências neste sentido para o caso da septoríose. O aparecimento de patótipos mais virulentos, no entanto, também está sob a influência da seleção de estabilização exercida sobre a população do patógeno na ausência do hospedeiro (Van der Plank, 1975). Assim, alguns patógenos apresentam patogenicidade estável ou porque as raças novas apresentam baixa capacidade de sobrevivência saprofítica ou porque possuem baixo nível de virulência (Walker, 1966, in Király et al., 1975). Por isso, Day (1974) colocou que a resistência específica tem sido, e continuaria a ser, uma alternativa eficiente no controle de epifitias em muitas culturas e que, segundo Robinson (1971, in Day 1974), a sua efetividade dependeria de características específicas de cada sistema patógeno-hospedeiro. A continuação do uso de resistência com herança oligogênica para o melhoramento de leguminosas foi recomendado por Meiners (1981). Ele concluiu que esse tipo de resistência tem sido estável durante muito tempo mesmo contra doenças causadas por patógenos com variabilidade notória, como o

mosaico comum do feijoeiro e a murcha de *Fusarium* em ervilha. Assim, ao contrário do que afirmaram Lincoln & Cummins (1949), a resistência à septoriose, sendo "específica" ou não, tem boas chances de ser durável.

Quanto às discordâncias entre os resultados de diversos autores para vários aspectos da resistência, não se tem determinado as causas exatas para estes dados conflitantes. Na verdade, as hipóteses até agora formuladas que atribuem as discordâncias à variabilidade dos isolados, à variabilidade dos genótipos, à diversidade de métodos e critérios empregados nos trabalhos (Maluf et al., 1985) ou às diferenças das condições ambientais onde foram executados os experimentos (Andrus & Reynard, 1945), não são mutuamente excludentes. Isto dificulta a escolha de uma metodologia de avaliação para um programa de incorporação de resistência baseada apenas na literatura. Também ressalta a importância do estudo cuidadoso da metodologia de avaliação para se ter o máximo de confiabilidade nos resultados obtidos nas avaliações de genótipos, tanto em estudos de herança da resistência como em programas de melhoramento do tomateiro.

**FIGURA 1.** Folha de tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill com sintoma típico de septoriose, aos 12 dias após a inoculação artificial de *Septoria lycopersici* Speg.



TABELA 1. Produção, Área Colhida e Produtividade de tomate crescimento relativo no Brasil e por região, de 1968 a 1988.

| REGIÃO                      | 1968  | 1978    | %/1   | 1988    | %/2   |
|-----------------------------|-------|---------|-------|---------|-------|
| PRODUÇÃO (em mil toneladas) |       |         |       |         |       |
| SUL                         | 36,6  | 196,2   | 436,0 | 161,6   | -17,6 |
| SUDESTE                     | 512,2 | 892,6   | 74,2  | 1.130,4 | 26,6  |
| CENTRO-OESTE                | 8,0   | 54,3    | 578,7 | 174,4   | 211,1 |
| NORDESTE                    | 271,1 | 318,0   | 17,2  | 933,0   | 193,4 |
| NORTE                       | 1,1   | 2,8     | 154,4 | 0,9     | -67,0 |
| BRASIL                      | 775,2 | 1.464,5 | 88,9  | 2.406,7 | 64,3  |
| ÁREA COLHIDA (em mil ha)    |       |         |       |         |       |
| SUL                         | 3,1   | 7,7     | 148,3 | 5,6     | -27,7 |
| SUDESTE                     | 22,9  | 31,5    | 37,5  | 26,4    | -16,1 |
| CENTRO-OESTE                | 0,8   | 1,5     | 87,5  | 4,2     | 180,0 |
| NORDESTE                    | 16,8  | 14,6    | -13,1 | 26,2    | 79,5  |
| NORTE                       | 0,6   | 0,4     | -33,3 | 0,1     | -75,0 |
| BRASIL                      | 44,2  | 55,9    | 26,5  | 62,9    | 12,5  |

(continua na próxima página)

/1 = crescimento relativo de 1968 a 1978

/2 = crescimento relativo de 1978 a 1988

(continuação da Tabela 1)

| REGIÃO                  | 1968 | 1978 | %/1   | 1988 | %/2  |
|-------------------------|------|------|-------|------|------|
| PRODUTIVIDADE (em t/ha) |      |      |       |      |      |
| SUL                     | 11,6 | 25,5 | 119,8 | 28,8 | 12,9 |
| SUDESTE                 | 22,4 | 28,3 | 23,3  | 42,8 | 51,2 |
| CENTRO-OESTE            | 9,9  | 36,2 | 265,6 | 41,5 | 14,6 |
| NORDESTE                | 16,2 | 21,8 | 34,5  | 35,6 | 31,9 |
| NORTE                   | 1,8  | 5,7  | 216,6 | 8,7  | 52,6 |
| BRASIL                  | 17,5 | 26,2 | 49,7  | 38,3 | 46,2 |

/1 = crescimento relativo de 1968 a 1978

/2 = crescimento relativo de 1978 a 1988

(fonte = Anuário Estatístico do IBGE 1969, 1979 e 1989)

TABELA 2. Espécies do gênero *Lycopersicon* reconhecidas até 1987, segundo Warnock (1988).

| ESPÉCIE                                               | SUBTAXON                             | ANO   |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------|
| 1) <i>L. esculentum</i> Mill.                         | var. <i>esculentum</i> /1            | 1754. |
|                                                       | var. <i>cerasiforme</i> (Dun.) Gray  | 1768. |
| 2) <i>L. pimpinellifolium</i> (Jusl.)<br>Mill.        |                                      | 1886. |
| 3) <i>L. cheesmanii</i> Riley                         | f. <i>cheesmanii</i>                 | 1925. |
|                                                       | f. <i>minor</i> (Hook. f.) Mull.     | 1940. |
| 4) <i>L. hirsutum</i> Humb. & Bonpl.                  | f. <i>hirsutum</i>                   | 1816. |
|                                                       | f. <i>glabratum</i> Mull.            | 1940. |
| 5) <i>L. penellii</i> (Corr.) D'Arcy                  | var. <i>penellii</i>                 | 1981. |
|                                                       | var. <i>puberulum</i> (Corr.) D'Arcy | 1981. |
| 6) <i>L. chmielewskii</i> Rick, Kes.,<br>Fob. & Holle |                                      | 1976. |
| 7) <i>L. parviflorum</i> Rick, Kes.,<br>Fob. & Holle  |                                      | 1976. |
| 8) <i>L. peruvianum</i> (L.) Mill.                    | var. <i>peruvianum</i>               | 1768. |
|                                                       | var. <i>humifusum</i> Mull           | 1940. |
| 9) <i>L. chilense</i> Dun.                            |                                      | 1952. |

/1 A publicação válida de um nome de um taxon subordinado que não inclua a espécie tipo automaticamente estabelece uma subdivisão equivalente que contém a espécie tipo e que leva o mesmo epíteto da espécie. Deve ser usado sem a citação de um nome de autor (Warnock, 1988).



TABELA 3. Espécies selvagens de *Lycopersicon* usadas no melhoramento do tomate cultivado.

| ESPÉCIE                                                 | MATERIAL MELHORADO  | RESISTÊNCIA                                        | REFERÊNCIA                           |
|---------------------------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>L. cheesmanii</i>                                    |                     | SOLOS SALINOS                                      | RICK, 1977.                          |
| <i>L. chilense</i>                                      |                     | "BEET CURLY TOP VIRUS"                             | VIRGIN, 1940:IN WALTER, 1967.        |
| <i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>            |                     | <i>Verticillium</i> SP.                            | MALUF, 1985.                         |
| <i>L. hirsutum</i> (PI 134417)                          |                     | <i>Alternaria solani</i>                           | DATAR & LOWKAM, 1985.                |
| <i>L. hirsutum</i> (PI 126445)                          | MC EBR-1            | <i>Alternaria solani</i>                           | GARDNER, 1988.                       |
| <i>L. hirsutum</i> (PI 126445)                          | TARGINNIE RED       | <i>Septoria lycopersici</i>                        | ANDRUS & REYNARD, 1945.              |
| <i>L. hirsutum</i> (PI 127826)                          |                     | TSWV                                               | MALUF, 1985.                         |
| <i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i><br>(PI 134417) |                     | TSWV                                               | MALUF, 1985.                         |
| <i>L. penellii</i>                                      |                     | SECA                                               | RICK, 1977.                          |
| <i>L. penellii</i>                                      |                     | TNV                                                | SMITH:IN WALTER, 1967.               |
| <i>L. peruvianum</i>                                    | CN-01               | TSWV                                               | HAGAI, 1984.                         |
| <i>L. peruvianum</i>                                    |                     | <i>Meloidogyne</i> spp.                            | SMITH, 1943:IN WALTER, 1967.         |
| <i>L. pinpinellifolium</i>                              |                     | <i>Fusarium oxysporum</i><br><i>f. lycopersici</i> | BOHN et al., 1940 :IN NELSON, 1973.  |
| <i>L. pinpinellifolium</i> (PI 422397)                  |                     | <i>Septoria lycopersici</i>                        | BARKSDALE & STONER, 1978.            |
| <i>L. pinpinellifolium</i> (PI 732293)                  |                     | TSWV                                               | MALUF, 1985.                         |
| <i>L. pinpinellifolium</i>                              | VÁRIAS              | <i>Stemphylium solani</i>                          | ANDRUS, 1934:IN WALTER, 1967.        |
| <i>L. pinpinellifolium</i>                              | GEN CF <sub>2</sub> | <i>Cladosporium fulvum</i>                         | ALEXANDER, 1934:IN WALTER, 1967.     |
| <i>L. pinpinellifolium</i> (PI 127805A) FLORADEL        |                     | <i>Pseudomonas solanacearum</i>                    | ACOSTA et al., 1964:IN WALTER, 1967. |
| <i>L. pinpinellifolium</i>                              | DEVON SURPRISE      | <i>Alternaria solani</i>                           | REYNARD & ANDRUS, 1945.              |
| <i>L. pinpinellifolium</i>                              | ÂNGELA              | PVY                                                | HAGAI, 1984.                         |

**TABELA 4.** Situação da produção de tomate no mundo  
(destaques) (FAO, 1988).

| PAÍS      | PRODUTIVIDADE<br>Kg/ha | PRODUÇÃO<br>ANUAL<br>1.000 ton |
|-----------|------------------------|--------------------------------|
| CHINA     | 15.728                 | 5.324                          |
| URSS      | 18.000                 | 7.200                          |
| EGITO     | 24.830                 | 3.650                          |
| MÉXICO    | 25.531                 | 1.731                          |
| ROMENIA   | 28.378                 | 2.100                          |
| BRASIL    | 35.757                 | 1.979                          |
| TURQUIA   | 37.453                 | 5.000                          |
| ESPAÑA    | 41.911                 | 2.347                          |
| ITÁLIA    | 42.756                 | 5.036                          |
| GRECIA    | 46.854                 | 1.921                          |
| JAPÃO     | 52.229                 | 820                            |
| EUA       | 53.305                 | 8.309                          |
| BÉLGICA   | 240.591                | 179                            |
| DINAMARCA | 261.538                | 17                             |
| HOLANDA   | 285.000                | 570                            |

TABELA 5. Métodos de produção de inóculo de *Septoria lycopersici* Speg.

| SUBSTRATO USADO<br>OU TESTADO                                                                                                                                      | REFERÊNCIA               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Aveia, milho, tomate, arroz, vagem verde de caupi, feijões, tubérculos de "Gabi", batata doce, folhas de tomate, BDA* e WA. pH 3,8 a 8,4 (melhor pH de 5,6 a 8,4). | Endrinal & Relino, 1940. |
| Vagens de feijão cozidas                                                                                                                                           | Andrus & Reynard, 1945.  |
| BDA, cenoura e feijão* (agar)                                                                                                                                      | Kurozawa, 1972.          |
| Batata*, milho, aveia, Czapek (agar).<br>Temperaturas de 5 a 30 °C (melhores de 20 a 28 °C). pH de 4 a 11 (melhor a 6).<br>Testes com diversas fontes de C e N.    | Sohi & Sokhi, 1974.      |
| Farinha de Milho + Agar (Difco)                                                                                                                                    | Barksdale & Stoner, 1978 |
| BDA                                                                                                                                                                | Tu & Poysa, 1990.        |

\* produziram melhores resultados

TABELA 6. Métodos de inoculação de *Septoria lycopersici* Speg. em tomateiro para a avaliação da resistência.

| MÉTODO DE<br>DEPOSIÇÃO                                    | CONCENTRAÇÃO<br>DE INÓCULO               | CÂMARA<br>ÚMIDA<br>(h) | REFERÊNCIA                |
|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| Pulverização                                              | (?)                                      | 48                     | Alexander, 1935.          |
| Ferimento + plug                                          |                                          |                        |                           |
| Pulverização                                              | (?)                                      | (?)                    | Endrinal & Relino, 1940.  |
| Mergulho                                                  | (?)                                      | 48                     | Andrus & Reynard, 1945.   |
| Deposição de gota<br>em folha destacada<br>com ferimento. | (?)                                      | -                      | Locke, 1948.              |
| Pulverização                                              | (?)                                      | 48                     | Cook, 1954.               |
| Pulverização                                              | 50 esp.<br>campo de 10 x.                | 72                     | Echim, s.d.               |
| Pulverização                                              | $1,5 \times 10^3$ a<br>$7,5 \times 10^5$ | 48                     | Kurozawa, 1972.           |
| Pulverização                                              | $5,0 \times 10^5$                        | 64                     | Barksdale & Stoner, 1978. |
| Pincelamento, Mergu<br>lho e pulverização                 | 10 a $10^7$<br>(melhor $10^6$ )          | 96                     | Tu & Poysa, 1990.         |

TABELA 7. Estádios fenológicos das plântulas de tomate na inoculação de *Septoria lycopersici* Speq., épocas e critérios de avaliação da resistência.

| REFEIRÊNCIA              | ESTÁDIO                   | ÉPOCA                     | CRITÉRIO DE AVALIAÇÃO                                                                                         |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alexander, 1935          | 35 d.a.p. <sup>/1</sup>   | 14 d.a.i. <sup>/2</sup>   | Notas de 0 a 3.                                                                                               |
| Andrus & Reynard, 1945   | 28 d.a.p.                 | 7 d.a.i.                  | Tipo de lesão.                                                                                                |
| Locke, 1948              | 10 polegadas              | 8 d.a.i.                  | Diâmetro de lesão.                                                                                            |
| Lincoln & Cummins, 1949  | 4 folhas                  | 14 d.a.i.                 | Tipo de lesão.                                                                                                |
| MacNeill, 1950a          | ---                       | 7 d.a.i.                  | Tipo de lesão.                                                                                                |
| Cook, 1954               | 35 a 42 d.a.p.            | 14 d.a.i.                 | Diâmetro de 25 lesões, nº de lesões por planta.                                                               |
| Kurozawa, 1972           | teste com vários estádios | 7, 13, 14, 15 e 23 d.a.i. | Diâmetro das 5 maiores lesões da folha.                                                                       |
| Barksdale & Stoner, 1978 | 3 a 4 folhas              | 12 d.a.i.                 | Lesões por folíolo, picnídios por lesão, picnídios por folíolo, conídios por folíolo e conídios por picnídio. |
| Barksdale, 1982          | 66 d.a.p.                 | 20, 30 e 41 d.a.i.        | Notas de 0 a 9, baseadas na destolha.                                                                         |
| Echin et al., s.d.       | 4 a 5 folhas              | ---                       | Grau de ataque em %.                                                                                          |
| Maluf et al., 1985       | ---                       | 60 d.a.p.                 | Notas de 0 a 5, baseadas no nível de ataque.                                                                  |
| Tu & Poysi, 1990         | 3 folhas                  | 8 e 15 d.a.i.             | Notas de 0 a 9, baseadas na área foliar lesionada.                                                            |

/1 d.a.p. = dias após o plantio

/2 d.a.i. = dias após a inoculação

TABELA 8. Avaliações de germoplasma de *Lycopersicon* para a identificação de fontes de resistência à *Septoria lycopersici* Speg.

| REFERÊNCIA                | INTRODUÇÕES<br>TESTADAS | MATERIAL COM<br>RESISTÊNCIA                                                             |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Alexander, 1935.          | 180                     | nenhuma.                                                                                |
| Alexander et al., 1942.   | 488                     | <i>L. peruvianum</i> , <i>glandulosum</i> , <i>hirsutum</i> , <i>pimpinellifolium</i> . |
| Locke, 1942.              | 50                      | <i>L. hirsutum</i> .                                                                    |
| Andrus & Reynard, 1945.   | 394                     | M6 ("Targinnie Red") <sup>/1</sup> , <i>L. hirsutum</i> .                               |
| Locke, 1949.              | 84                      | <i>L. hirsutum</i> (*), <i>L. glabratum</i> , <i>glandulosum</i> .                      |
| Lincoln & Cummins, 1949.  | 65                      | <i>L. glandulosum</i> , <i>hirsutum</i> (*), <i>peruvianum</i> .                        |
| Alexander, 1959.          | 300                     | <i>L. pimpinellifolium</i> , <i>peruvianum</i> , <i>esculentum</i> <sup>/2</sup> .      |
| Kurozawa & Balmer, 1977c. | 77                      | <i>L. glandulosum</i> , <i>peruvianum</i> .                                             |
| Barksdale & Stoner, 1978. | 14                      | <i>L. pimpinellifolium</i> (PI 422397), PU-60-01-3/-2/-1, M6, "SWST".                   |
| Barksdale, 1982.          | 15                      | Linhagem melhoradas, progênies de <i>L. pimpinellifolium</i> (PI 422397).               |
| Maluf et al., 1985.       | 20                      | <i>L. hirsutum</i> (*).                                                                 |
| Chauban, 1987.            | 12                      | <i>L. esculentum</i> (Sweet 72, Sel 152, S 12, Marglobe, Gamble). <sup>/2</sup>         |
| Farber & Vlasova, 1988    | 1048                    | <i>L. cheesmanii</i> , <i>hirsutum</i> , <i>chilense</i> , <i>peruvianum</i> .          |

(\*) = incluindo o PI 126445.

<sup>/1</sup> = tipo como híbrido natural entre *L. esculentum* e *L. hirsutum*.

<sup>/2</sup> = resistência intermediária, observações de campo.

## C A P Í T U L O    I I

METODOLOGIA    DE    AVALIAÇÃO    DA    RESISTÊNCIA    DE  
*Lycopersicon* SPP. A *Septoria lycopersici* SPEG.

## 1 - ABSTRACT

In order to standardize an efficient methodology to evaluate tomato resistance to *Septoria* leaf spot, caused by *Septoria lycopersici* Speg., several methodological components were studied. Eight liquid culture media were compared for conidial production. Three inoculum concentrations, four inoculation methods and four phenological seedling stages were compared by several parameters, including the measurement of lesion diameter and the determination of the number of picnidia per lesion. The best media for conidial production were the ones made with tomato leaves and the one made with carrot. The best inoculum concentration was  $10^3 - 10^4$  conidia per ml. The spraying method and the application of inoculum with a painter foam-roller gave better results than the leaf dipping and the brush application methods. The seedlings with four true leaves were significantly ( $P < 5\%$ ) more susceptible than the ones with just two true leaves and the ones with only the cotyledonary leaves.



## 2 - RESUMO

A fim de se padronizar uma metodologia eficiente para a avaliação da resistência de tomate (*Lycopersicon* spp.) à septoriose, causada por *Septoria lycopersici* Speg., foram estudados diversos componentes da metodologia de avaliação. Foram comparados oito meios líquidos de cultura para produção de inóculo do fungo, três concentrações de inóculo, quatro métodos de inoculação e quatro estádios fenológicos de plântulas, através de vários critérios de avaliação, incluindo a medição do diâmetro de lesão e a contagem do número de picnídios por lesão. Os meios que mais produziram conídios foram os de folhas de tomate e o de cenoura. A concentração ideal de inóculo ficou entre  $10^3$  e  $10^4$  conídios por ml. Os métodos de pulverização e aplicação do inóculo com rolo de espuma foram considerados melhores que o pincelamento e o mergulho das folhas. As plântulas no estágio de quatro folhas foram significativamente ( $P < 5\%$ ) mais suscetíveis que as no estágio de duas folhas ou de folhas cotiledonares.

### 3 - INTRODUÇÃO

A necessidade da redução do uso de agrotóxicos em função da poluição ambiental e contaminação humana, bem como de redução dos custos de produção tem levado a uma retomada dos trabalhos com resistência de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) a diversas doenças foliares nestas duas últimas décadas, 1970 e 1980, em diversas partes do mundo (Barksdale & Stoner, 1973; Datar & Lowkan, 1985; Maluf et al., 1985; Inoue et al., 1989a; Inoue et al., 1989b; Gardner, 1988; Nash & Gardner, 1988; Vlasova & Farber, 1985; Wanderley et al., 1980). Neste mesmo período, também a pesquisa da resistência do tomateiro à septoriose tem sido retomada ou iniciada em diversos países, como EUA (Barksdale & Stoner, 1978), França (Echim et al., s.d.), URSS (Farber & Vlasova, 1988) e Canadá (Tu & Poysa, 1990). No Brasil, esta doença tem estado entre as mais importantes e alguns autores tem buscado identificar fontes de resistência a ela (Kurozawa & Balmer, 1977c; Maluf et al., 1985).

Alguns resultados, de diversos autores, que são conflitantes na avaliação da resistência de certos genótipos (Cook, 1954; Maluf et al., 1985) e a diminuição da resistência de linhas avançadas de melhoramento (Lincoln & Cummins, 1949), lançam dúvidas sobre a eficiência dos métodos utilizados e, conseqüentemente, das fontes de resistência identificadas. Uma

das hipóteses levantadas para explicar essas divergências foi o uso de diferentes critérios de avaliação pelos diversos autores (Maluf *et al.*, 1985).

Diferenças entre metodologias foram identificadas já nos meios de cultura usados para a produção de inóculo (Capítulo I - Tabela 5). Endrinal & Relino (1940), Sohi & Sokhi (1974) e Kurozawa (1972) compararam uma série de meios de cultura para a produção de conídios de *Septoria lycopersici* Speg. (Capítulo I - Tabela 5). O melhor meio encontrado pelos dois primeiros autores foi o meio de batata dextrose agar (BDA). Tu & Poysa (1990) também relataram o uso de BDA. Nos trabalhos realizados no CNPH (Malnati *et al.*, 1990a,b) tem-se obtido uma média superior a  $2 \times 10^4$  conídios por ml em 600 ml de suspensão cultivando-se o fungo em tubos de ensaio com aproximadamente 5 ml de BDA. Barksdale (1982) citou a produção de volumes acima de 5 litros de inóculo em meio sólido de farinha de milho para a avaliação em campo. A produção de grandes quantidades de inóculo de alguns fungos tem sido facilitada pelo uso de meios líquidos (Tuite, 1969; Reifschneider & Arny, 1979), porém esta metodologia não foi avaliada para *S. lycopersici*.

Para diversos modelos de estudo de doenças (Dhingra & Sinclair, 1985), e principalmente para fins de avaliação de resistência em condições controladas de laboratório, a determinação da concentração de inóculo tem sido fundamental para o sucesso dos trabalhos (Blum, 1989; Dias, 1990). A partir da

década de 1970, os trabalhos com a septoriose começaram a levar em conta a concentração de inóculo (Capítulo I - Tabela 6). Kurozawa (1972) testou sete concentrações de inóculo e encontrou que pulverizando suspensões com mais de  $10^5$  esporos por ml, com 48 horas de câmara úmida, a infecção era tão forte que as lesões ficavam coalescidas, impossibilitando a contagem, e as folhas secavam à época da avaliação. Tu & Poysa (1990) testaram o pincelamento de suspensões com concentrações entre  $10^1$  e  $10^7$  esporos por ml, com 96 horas de câmara úmida, e encontraram que a melhor concentração era  $10^6$  esporos por ml.

Vários métodos tem sido usados para inocular-se artificialmente o tomateiro com *Septoria lycopersici* a fim de se avaliar a resistência da planta à septoriose (Capítulo I - Tabela 6). Apenas Tu & Poysa (1990) compararam a eficiência de três métodos de inoculação, sob condições de casa-de-vegetação, e relataram que o melhor método foi o pincelamento do inóculo ( $10^6$  conídios por ml) nas duas superfícies da folha, deixando as plantas por quatro dias em câmara úmida. Os resultados obtidos no CNPH em trabalhos com este patossistema mostraram que concentrações maiores que  $10^5$  esporos por ml, quando pulverizados, provocam a queda das folhas e coalescimento das lesões antes que se possa avaliá-las (Malnati et al., 1990a).

"A resistência das plantas às doenças depende dos genótipo, da idade das plantas e das condições fisiológicas das plantas (...). Enquanto as raízes e os hipocótilos são mais

sensíveis a infecção por parasitas facultativos quando novas, tornando-se mais resistentes com a idade, as folhas, pelo contrário, atingem o pico de resistência quando novas, frequentemente antes da expansão total, e então progressivamente tornam-se mais suscetíveis com a idade." (Bell, 1982). Entretanto, somente Kurozawa (1972) testou a reação de plantas em quatro estádios de plantas (22, 24, 38 e 50 dias após o plantio) e três posições de folhas (terceira, quarta e quinta folha) de tomateiro 'a *Septoria lycopersici* e encontrou que as plantas mais novas apresentavam lesões significativamente maiores que as mais velhas. Porém, as folhas mais baixas, e portanto mais velhas, foram mais suscetíveis que as superiores.

O objetivo deste trabalho foi de estudar alguns componentes da metodologia de avaliação da resistência de tomateiro 'a septoriose. Estudou-se a possibilidade de produção de conídios de *Septoria lycopersici* em meio líquido, a concentração do inóculo, o método de inoculação, o estádio da plântula na inoculação e o parâmetro de avaliação, a fim de se estabelecer uma metodologia eficiente e padronizada para a seleção de genótipos de tomateiro resistentes 'a doença.

#### 4 - MATERIAL E MÉTODOS

A não ser quando explicitado, os procedimentos adotados no trabalho foram os seguintes:

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação revestida de plástico duplo inflado, com controle automático de temperatura e umidade através de exaustores, uma das paredes de argila expandida com circulação de água e sistema de microirrigação, acionado por sensores elétricos.

O substrato utilizado para cultivar as plantas foi uma mistura de solo, areia (ou palha de arroz queimada), adubo orgânico e fertilizante químico (N-P-K 4-14-8). A mistura foi submetida ao tratamento com brometo de metila segundo Reifschneider & Cobbe (1989). As sementes foram tratadas com uma solução de  $\text{KNO}_3$  a 0,4% para uniformizar a germinação. As plântulas foram transplantadas das sementeiras para os recipientes definitivos dos experimentos no estágio de uma folha verdadeira expandida. Foram feitas fertilizações adicionais a formulação N-P-K 10-10-10, quando se julgou necessário pela aparência geral das plântulas.

Os genótipos utilizados foram fornecidos pela Coleção de Germoplasma de Tomate do CNPH. Como padrão de resistência foi

usado o CNPH 416, da espécie *Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. (PI 126445). Este material apresenta frutos verdes de cerca de 1 cm de diâmetro, originário do lado oeste dos Andes da América do Sul. Como padrões suscetíveis foram usados o CNPH 30 ("IPA-3"), o CNPH 405 ("Olho Roxo" - IPA), CNPH 507 ("IPA-5" - do tipo indústria, muito cultivado no Brasil), o CNPH 501 (do grupo "Santa Cruz") e o CNPH 530 ("NC-EBR2"), todas da espécie *L. esculentum*.

Os isolados utilizados foram colhidos de folhas de tomateiros, oriundos de plantios atacados, e preservados em culturas axênicas em tubos com BDA, a 4° C. Foram cadastrados na coleção de trabalho do laboratório de Fitopatologia do CNPH sob os números 329 (coletado em Patos de Minas, MG - 08/88), 348 (coletado no CNPH, DF - 10/89) e 351 (coletado em Brasília, GO - 10/89).

Os conídios utilizados foram colhidos de culturas de aproximadamente três semanas de idade cultivadas em tubos com BDA, a 25° C sob luz fluorescente (4 lâmpadas de 40 W a cerca de 40 cm de distância das colônias) continua.

As avaliações da resistência foram feitas através da contagem de picnídios, sob lupa, e medição do diâmetro, com paquímetro, das 3 maiores lesões da folha inoculada.

#### 4.1. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS EM MEIO LÍQUIDO

A fim de testar a possibilidade de produção de conídios em meio líquido, foram avaliados oito meios de cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições. Cada parcela foi constituída por um Erlenmeyer com 50 ml de meio líquido. Os tratamentos comparados foram os seguintes meios de cultura (proporções para o preparo de 1 litro):

- 1 - BD = 200 g de batata + 30 g de dextrose;
- 2 - AD = 30 g de aveia + 10 g de dextrose;
- 3 - VB = 40 ml de suco de tomate temperado + 3 g de  $\text{CaCO}_3$ ;
- 4 - FR = 30 g de folha (60 dias) de tomateiro resistente ( $F_1$  de CNPH 353 com CNPH 416);
- 5 - FS = 30 g de folha (60 dias) de tomateiro suscetível (CNPH 353);
- 6 - Ce = 200 g de cenoura;
- 7 - MD = 30 g de fubá de milho + 10 g de dextrose;
- 8 - AzD = 30 g de arroz beneficiado + 10 g de dextrose.

A batata, a aveia, o milho e o arroz foram cozidos durante 30 minutos. As folhas de tomateiro e a cenoura foram trituradas no liquidificador. Estes ingredientes foram passados em gaze e o líquido coado foi completado para 1 litro com água destilada. Foram preparados três erlenmeyers com 50 ml de meio para cada tipo. Estes foram autoclavados a 120 °C por 15



minutos. Para cada erlenmeyer foi transferido 1 ml de suspensão de conídios do isolado CNPH 351 com uma concentração de  $5 \times 10^4$  esporos por ml. As culturas foram incubadas no escuro a 25 °C com agitação contínua a 100 rpm.

Aos 11, 18 e 28 dias após a transferência (d.a.t.) dos conídios para os meios, foram retiradas amostras de 2 ml do líquido de cada erlenmeyer. Foi adicionado 0,5 ml de álcool anidro a cada amostra, para matar os esporos. As amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio com tampa e mantidos a 4° C. Para tentar forçar uma liberação de conídios dos picnídios, no 28° d.a.t., após a coleta das amostras, o conteúdo de cada erlenmeyer foi completado para 200 ml com água esteril. No 32 d.a.t., foram feitas novas amostragens seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. Para avaliação das amostras foram feitas dez contagens de esporos por amostra, em câmara de Neubauer (hemacitômetro).

Uma suspensão com cerca de  $10^4$  conídios por ml, oriunda do meio de Ce, escolhido ao acaso, foi inoculada em plantas de tomate para teste de patogenicidade. As plantas foram deixadas por 48 horas em câmara úmida, após a inoculação.

#### 4.2. CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO

Este experimento foi montado para determinar a concentração de inóculo mais adequada à avaliação de resistência sob condições de casa-de-vegetação. O esquema experimental foi de um fatorial num delineamento em parcelas subdivididas, com três repetições. Os tratamentos foram: um branco e concentrações de inóculo de  $10^3$ ,  $10^4$  e  $10^5$  conídios por ml inoculados nos genótipos CNPH 416 e CNPH 507. Cada parcela foi constituída por uma caixa de plástico (40x30x10 cm), contendo duas fileiras (subparcelas) com 4 plantas de cada um dos genótipos. As plantas foram inoculadas no estágio de três folhas verdadeiras, através de pulverização com suspensão de conídios do isolado 348.

No oitavo dia após a inoculação foram contados os picnídios e medidos os diâmetros das três maiores lesões. As folhas foram lavadas com 100 ml de água esteril e foi retirada uma amostra de 2 ml do lavado. À esta amostra foi adicionado 0,5 ml de álcool. As amostras foram mantidas em tubos de ensaio com tampa, a 4° C. Para a contagem do número de esporos foi usado um hemacitômetro (câmara de Newbauer). Foram feitas quarenta contagens para cada amostra.

Os dados do número de picnídios e da concentração do lavado foram transformados para  $\log(x+1)$  para as análises estatísticas (Gomez & Gomez, 1984).

#### 4.3. MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

A fim de comparar diferentes métodos para a inoculação de *S. lycopersici* em tomateiro, foi montado um experimento que seguiu um esquema fatorial com delineamento em blocos casualizados com parcelas subdivididas, com 6 repetições. Os tratamentos principais foram os métodos de deposição de inóculo. Foram comparados o mergulho da folha na suspensão de inóculo, o pincelamento da suspensão de inóculo nas duas superfícies foliares, a pulverização da suspensão de inóculo e aplicação da suspensão de inóculo com um rolo de espuma (próprio para pintura). Os tratamentos secundários foram os genótipos CNPH 416, 507 e 530. As parcelas foram compostas por seis vasos, de 8 litros cada, sendo dois vasos de cada genótipo, com uma planta, como subparcela. A concentração usada foi de  $5 \times 10^3$  esporos por ml. As plantas se encontravam com quatro folhas expandidas e foram inoculadas na segunda folha verdadeira. Em cada bloco foram colocadas três plantas sem inoculação como controle. O isolado utilizado foi o 348.

A avaliação foi feita em duas etapas. Na primeira, aos oito dias após a inoculação (d.a.i.), foi contado o número de

lesões. Aos 10 d.a.i. foi feita a contagem do número de picnídios das três maiores lesões e a medição do diâmetro das mesmas. O número de lesões e o número de picnídios foram transformados para  $\log(x+1)$  nas análises estatísticas (Gomez & Gomez, 1984).

#### 4.4. ESTÁDIOS DE PLÂNTULAS E CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO

Para se diferenciar o melhor estágio de desenvolvimento das plântulas para a inoculação e comparar os critérios de avaliação foram montados dois experimentos:

Um em casa-de-vegetação de vidro com o delineamento de blocos completos casualizados em um esquema fatorial com subparcelas. Cada subparcela foi composta por uma linha com quatro plantas de cada um dos genótipos CNPH 416, CNPH 30, CNPH 507 e CNPH 405. As parcelas foram formadas por caixas plásticas, com plantas em um dos estádios fenológicos de quatro folhas verdadeiras, três folhas, duas folhas e folhas cotiledonares. Foram montados três blocos e cada bloco recebeu uma caixa sem inoculação como controle. As plantas receberam uma pulverização em ambas as faces das folhas com cerca de 80 ml por parcela de uma suspensão de  $10^4$  esporos por ml. O isolado utilizado foi o 348. Após a inoculação, as plantas foram deixadas por 48 horas em câmara úmida. Aos 10 dias após a inoculação (d.a.i.), as plantas foram avaliadas, pela folha inoculada de posição mais superior de cada estágio, quanto ao número de picnídios, diâmetro das três

maiores lesões, número total de lesões e número de lesões desenvolvidas. Foram consideradas lesões desenvolvidas aquelas que apresentavam centro claro com picnidos evidentes.

No segundo experimento foi usado o mesmo delineamento anterior. Nas quatro repetições usadas, as parcelas foram constituídas pelos estádios de quatro folhas, duas folhas e folhas cotiledonares. Não se usou plântulas no estádio de 3 folhas para se aumentar a possibilidade de distinção entre os estádios de 4 e 2 folhas verdadeiras. Cada subparcela foi constituída por uma linha com 4 plantas de um dos genótipos CNPH 416, CNPH 501 ou CNPH 507. As plantas receberam o mesmo tipo de inoculação artificial com uma concentração de inóculo de  $5 \times 10^3$  esporos por ml, menor que no experimento anterior para que as lesões ficassem melhor distribuídas. Foram avaliados aos 10 d.a.i. quanto ao número do picnidos e diâmetro das 3 maiores lesões.

Em ambos os experimentos, o valor da subparcela foi a média aritmética das observações das plantas da linha. Os dados de contagens foram transformados para  $\text{Log}(x+1)$  para as análises estatísticas.

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS EM MEIO LÍQUIDO

Os meios FS, Ce, FR, V8, BD e AD mostraram-se, em ordem decrescente, próprios para a produção de conídios de *S. lycopersici* (Tabela 9). As plantas inoculadas com estes conídios foram infectadas e reproduziram os sintomas característicos da septoriose, confirmados na lupa e no microscópio. Esta metodologia pode ser útil para a produção de grandes quantidades de inóculo. Porém, pela necessidade de pequenas quantidade de inóculo e pela facilidade de manipulação do meio sólido, foi mantido no restante deste trabalho a produção em tubos inclinados de BDA. No meio sólido é possível, a olho nú, visualizar a esporulação do fungo, o que facilita a coleta de esporos e a repicagem.

### 5.2. CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO

A medição do diâmetro das lesões ficou prejudicada na concentração de  $10^5$  conídios por ml devido ao coalescimento das lesões. A contagem de picnídios ainda pode ser feita uma vez que, na época da avaliação, eles estavam concentrados nos centros das lesões. Nas condições de estufa de plástico, onde a umidade geralmente é superior a 90% à noite, a melhor concentração para

inoculações através da pulverização está entre  $10^3$  e  $10^4$  conídios por ml (Tabela 10).

As análises mostraram alta correlação ( $P=1\%$ ) entre os parâmetros de avaliação, indicando que se for feita uma seleção com base em um dos critérios, os outros estarão seguindo o mesmo sentido. Assim se a seleção for feita para genótipo nos quais o número de picnídios nas lesões seja menor, haverá também uma menor produção de conídios, o que a nível de campo poderia significar uma diminuição no potencial de inóculo secundário e, conseqüentemente, uma menor taxa de progresso da doença. Isso pode ser parcialmente confirmado, pois os genótipos neste trabalho se comportaram de acordo com os resultados de campo de Maluf *et al.* (1985). Outros genótipos selecionados por Barksdale (1982) em laboratório também apresentaram resistência em campo.

### 5.3. MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

As análises estatísticas mostraram diferenças significativas entre os métodos testados, ao nível de 5%, em relação ao número de lesões e ao número de picnídios, mas não com diâmetro de lesões. Apenas a avaliação através da contagem das lesões não foi eficiente para diferenciar a resistência dos genótipos em todos os tratamentos (Tabela 11). No método com o rolo, entretanto, houve diferença significativa entre os genótipos suscetíveis e o resistente, com relação aos três parâmetros avaliados.

A avaliação através da contagem das lesões foi prejudicada pela variação existente entre e dentro dos genótipos quanto ao tamanho e quanto ao número de folíolos da segunda folha.

Mesmo tendo usado uma concentração de inóculo muito menor que a relatada como ideal por Tu & Poysa (1990), a infecção causada com o pincelamento foi muito forte, com grande número de lesões que coalesceram dificultando a avaliação.

Como em todos os métodos foi possível diferenciar a resistência dos genótipos, o método de pulverização é o mais indicado, pois além de gastar menos tempo para a inoculação, resultou em lesões satisfatoriamente bem distribuídas na folha. Mais ainda, é o mais parecido com a infecção natural por respingos de chuva (Endrinal & Relino, 1940).

#### 5.4. ESTÁDIOS DE PLÂNTULAS E PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO

Para o número de picnídios e o diâmetro das lesões não houve diferença estatística entre os estádios testados. Contudo, houve diferença entre os genótipos (Tabela 12). Apenas com estes parâmetros foi possível diferenciar os genótipos resistente e suscetíveis em todos os estádios testados, inclusive o cotiledonar. Para o número total de lesões e para o número de lesões desenvolvidas foram identificadas interações



significativas entre estádios e genótipos. O genótipo CNPH 30 no estágio de três folhas apresentou significativamente maior número de lesões desenvolvidas e total de lesões que os outros genótipos suscetíveis e o total de lesões no padrão resistente, neste estágio, não diferiu do encontrado nos genótipos CNPH 507 e CNPH 405.

No segundo experimento, tanto para o número de picnídios como para diâmetro de lesões não foi possível detectar interações significativas ao nível de 5% entre genótipos e estádios, mas sim para genótipos e estádios independentemente (Tabela 13). O estágio de quatro folhas mostrou-se mais suscetível do que os demais e ambos os parâmetros conseguiram diferenciar estatisticamente os genótipos resistente e suscetíveis dentro de cada estágio testado. Porém houve um confundimento entre os genótipos de diferentes estádios em relação ao diâmetro das lesões, isto é, o genótipo resistente com quatro folhas não diferiu dos suscetíveis nos estádios de duas folhas e cotiledonar.

Os resultados deste trabalho não estão de acordo com os dados apresentados por Kurozawa (1972), que encontrou maior suscetibilidade nas plântulas mais novas do que nas mais desenvolvidas. No presente trabalho as plântulas mais velhas se mostraram mais suscetíveis que as mais novas. Assim, parece que

as generalizações de Bell (1982) prevalecem para septoriose, isso é, o tomateiro torna-se mais suscetível à *S. lycopersici* com a idade.

Os melhores parâmetros para avaliação da resistência foram o número de picnídios e o diâmetro das lesões. O primeiro apresenta uma pequena vantagem sobre o segundo, pois mesmo entre estádios diferentes, não houve confundimento, estatisticamente, entre o material resistente e os suscetíveis. A avaliação do número de lesões foi comprometida pela variação no tamanho da folha dentro e entre os genótipos, assim como no número de folíolos.

Como foi possível diferenciar os genótipos em todos os estádios avaliados, pode-se realizar avaliações de genótipos para a resistência à septoriose ainda na fase cotiledonar, inoculando-se por pulverização de uma suspensão com cerca de  $10^4$  conídios por ml, com economia de tempo e principalmente espaço.

## APÊNDICE A. CONSERVAÇÃO DE INÓCULO

Para testar a conservação de inóculo de *Septoria lycopersici* Speg., foi preparada uma suspensão concentrada de esporos (maior que  $10^7$  conídios por ml), micélio e picnídios, colhidos de colônias cultivadas em BDA, numa solução 4% de peptona mais 4% de sacarose. A suspensão foi colocada em ampolas, a 0,7 ml por ampola. Foi usado o isolado CNPH 329. As ampolas foram congeladas em álcool a  $-18^{\circ}$  C e colocadas no liofilizador modelo B-64, marca Cryolizer da New Brunswick Scientific Co. Inc., por 4 horas, sendo, então, lacradas com maçarico. Após a liofilização, as ampolas foram deixadas sobre a bancada, onde as temperaturas médias variaram entre  $20^{\circ}$  e  $30^{\circ}$  C.

Após seis meses da liofilização, o conteúdo de uma ampola foi ressuscitado em água estéril e transferido para tubos com BDA inclinado. Os tubos foram incubados a  $25^{\circ}$  C sob luz contínua. Aos oito meses, a operação foi repetida com outra ampola.

Foi inoculada suspensão com cerca de  $10^4$  conídios por ml, colhidos das colônias cultivadas nos tubos que receberam o material liofilizado, em plantas de tomate para teste de patogenicidade.

Tanto aos seis como aos oito meses, o isolado 329 foi recuperado com sucesso e começou a esporular no meio de cultura aos sete dias. As plantas inoculadas mostraram sintomas característicos de septoriose confirmados na lupa e no microscópio.

Os resultados do ensaio de liofilização mostraram que o fungo pode ser conservado por este método por pelo menos oito meses, sem perder sua patogenicidade. É necessário, porém, que se teste com mais repetições, maior intervalo de tempo e com diferentes isolados para se conhecer suas limitações.

TABELA 9. Produção de conídios de *Septoria lycopersici* Speg. em meio líquido, em diferentes épocas de coleta. Média de três repetições (  $\times 10^4$  esporos/ml ).

| MEIOS            | 1 <sup>a</sup> AVAL.<br>11 D.A.T.* | 2 <sup>a</sup> AVAL.<br>18 D.A.T. | 3 <sup>a</sup> AVAL.<br>28 D.A.T. | 4 <sup>a</sup> AVAL.<br>32 D.A.T. |
|------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| FS <sup>/1</sup> | 33.4 a <sup>/2</sup>               | 86.3 a                            | 100.5 a                           | 73.4 a                            |
| Ce               | 36.4 a                             | 60.5 a                            | 101.3 a                           | 66.1 a                            |
| FR               | 48.2 a                             | 56.1 a                            | 65.2 ab                           | 56.5 ab                           |
| VB               | 10.0 b                             | 19.8 b                            | 35.4 b                            | 21.7 b                            |
| BD               | 30.4 a                             | 2.0 d                             | 5.0 d                             | 12.5 c                            |
| AD               | 11.6 b                             | 9.0 c                             | 10.0 c                            | 10.2 c                            |
| AZD              | 0.0 c                              | 0.0 e                             | 2.8 e                             | 0.9 c                             |
| MD               | 0.0 c                              | 0.0 e                             | 0.1 f                             | 0.0 c                             |
| C.V. (%)         | 11                                 | 11                                | 20                                | 20                                |

\* D.A.T. = Dias Após a Transferência

/1 FS = folhas de tomateiro suscetível; Ce = cenoura; FR = folhas de tomateiro resistente; VB = de suco temperado de tomate; BD = batata e dextrose; AD = aveia e dextrose; AZD = arroz e dextrose; e MD = farinha de milho e dextrose.

/2 Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si significativamente ao nível de 1% pelo teste SNK (Student-Neuman-Keul, com os dados transformados para  $\text{Log}(X+1)$ ).

TABELA 10. Efeito da concentração de inóculo de *Septoria lycopersici* Speg., sob diferentes parâmetros de avaliação da resistência de tomateiro. Média de três repetições.

| INÓCULO  | GENÓTIPO | DIÂMETRO | PICNÍDIOS | LAVADO |
|----------|----------|----------|-----------|--------|
| /1       |          | /2       | /3        | /4     |
| $10^3$   | 416      | 3.25 b   | 5.10 b    | 0.6 e  |
|          | 507      | 4.20 a   | 24.70 a   | 6.0 c  |
| $10^4$   | 416      | 3.15 b   | 6.90 b    | 1.7 d  |
|          | 507      | 4.18 a   | 25.90 a   | 17.1 b |
| $10^5$   | 416      | --       | 9.30 b    | 2.0 d  |
|          | 507      | --       | 22.90 a   | 23.0 a |
| C.V. (%) |          | 6.65     | 12.26     | 10.78  |

Obs: As médias na vertical seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5%, pelo teste SNK (dados de picnídios e lavado transformados para  $\log (X+1)$ ).

/1 = conídios/ml inoculados nas plântulas de tomate.

/2 = diâmetro das três maiores lesões da folha (em mm);

/3 = número de picnídios das três maiores lesões da folha;

/4 =  $10^4$  conídios/ml, colhidos na lavagem da folha com 100 ml de água esteril.

TABELA 11. Efeito de métodos de inoculação de *Septoria lycopersici* Speg. em tomateiro, sob diferentes parâmetros de avaliação. Médias de 6 repetições.

| MÉTODO            | GENÓTIPO | LESÕES <sup>/1</sup> | PICNÍDIOS <sup>/2</sup> | DIÂMETRO <sup>/3</sup> |
|-------------------|----------|----------------------|-------------------------|------------------------|
| MERGULHO          | 416      | 90.75 abc*           | 9.61 b                  | 3.07 e                 |
|                   | 507      | 165.00 abc           | 26.67 a                 | 3.56 d                 |
|                   | 530      | 190.58 ab            | 34.83 a                 | 4.47 a                 |
| PINCEL            | 416      | 77.50 bc             | 9.61 b                  | 3.07 e                 |
|                   | 507      | 281.75 a             | 32.30 a                 | 3.75 cd                |
|                   | 530      | 234.33 ab            | 37.58 a                 | 4.21 ab                |
| PULVE-<br>RIZAÇÃO | 416      | 39.00 c              | 10.03 b                 | 2.98 e                 |
|                   | 507      | 99.67 abc            | 28.08 a                 | 3.78 cd                |
|                   | 530      | 102.00 abc           | 33.67 a                 | 3.95 bc                |
| ROLO              | 416      | 12.92 d              | 7.70 b                  | 2.68 f                 |
|                   | 507      | 73.50 bc             | 25.67 a                 | 3.75 cd                |
|                   | 530      | 39.92 c              | 33.81 a                 | 4.22 ab                |

\* As médias na vertical seguidas da mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste SNK.

/1 = número total de lesões

/2 = número médio de picnídios das 3 maiores lesões da folha

/3 = diâmetro médio das 3 maiores lesões da folha (em mm).

TABELA 12. Efeito de estágio fenológico de plântulas de tomate na época de inoculação, sob diferentes parâmetros, na avaliação da resistência à septoriose. Médias de três repetições do primeiro experimento.

| ESTÁDIO  | GENÓTIPO | DIÂMETRO <sup>/1</sup> | PICNÍDIOS <sup>/2</sup> | LESÕES DES. <sup>/3</sup> | TOTAL DE LESÕES |
|----------|----------|------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------|
| QUATRO   | 416      | 2.38 b*                | 1.44 b                  | 1.08 b                    | 3.75 b          |
|          | 30       | 4.07 a                 | 22.62 a                 | 20.33 a                   | 23.25 a         |
|          | 507      | 4.65 a                 | 25.90 a                 | 18.36 a                   | 22.83 a         |
|          | 405      | 3.74 a                 | 23.10 a                 | 14.39 a                   | 15.95 a         |
| TRES     | 416      | 2.55 b                 | 0.25 b                  | 1.62 c                    | 4.50 b          |
|          | 30       | 4.50 a                 | 23.03 a                 | 13.12 a                   | 14.62 a         |
|          | 507      | 4.58 a                 | 27.31 a                 | 6.58 b                    | 7.50 b          |
|          | 405      | 3.92 a                 | 23.51 a                 | 7.33 b                    | 8.25 b          |
| DUAS     | 416      | 2.89 b                 | 0.43 b                  | 1.58 b                    | 4.42 a          |
|          | 30       | 4.25 a                 | 16.94 a                 | 8.62 a                    | 9.62 a          |
|          | 507      | 4.27 a                 | 22.28 a                 | 5.58 a                    | 6.25 a          |
|          | 405      | 4.51 a                 | 29.11 a                 | 8.49 a                    | 11.14 a         |
| FOLHAS   | 416      | 3.21 b                 | 0.14 b                  | 0.83 a                    | 0.92 a          |
|          | 30       | 4.08 a                 | 18.91 a                 | 1.11 a                    | 1.30 a          |
|          | 507      | 4.57 a                 | 21.15 a                 | 1.83 a                    | 2.25 a          |
|          | 405      | 4.63 a                 | 26.05 a                 | 1.58 a                    | 1.75 a          |
| C.V. (%) |          | 13                     | 12                      | 27                        | 21              |

\* As médias na vertical seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, ao nível de 1%, pelo teste SNK, dentro do mesmo estágio fenológico.

/1 = diâmetro médio das 3 maiores lesões da folha (em mm); /2 = número médio de picnídios das 3 maiores lesões da folha; /3 = número médio de lesões desenvolvidas (com centro claro e picnídios).



TABELA 13. Efeito de estágio fenológico de plântulas de tomate na época de inoculação, sob diferentes parâmetros, na avaliação da resistência à septoriose. Médias de quatro repetições do segundo experimento.

| ESTÁDIO              | GENÓTIPO | DIÂMETRO <sup>/1</sup> | PICNÍDIOS <sup>/2</sup> |
|----------------------|----------|------------------------|-------------------------|
| QUATRO FOLHAS        | 416      | 2.76 b                 | 4.83 c                  |
|                      | 501      | 3.83 a                 | 29.41 a                 |
|                      | 507      | 3.75 a                 | 30.97 a                 |
| -----                |          |                        |                         |
| DUAS FOLHAS          | 416      | 2.13 c                 | 2.96 c                  |
|                      | 501      | 2.78 b                 | 16.85 b                 |
|                      | 507      | 2.74 b                 | 16.24 b                 |
| -----                |          |                        |                         |
| FOLHAS COTILEDONARES | 416      | 1.90 c                 | 2.70 c                  |
|                      | 501      | 2.98 b                 | 13.27 b                 |
|                      | 507      | 3.02 b                 | 16.71 b                 |
| -----                |          |                        |                         |
| C.V. (%)             |          | 6.7                    | 12.2                    |

\* As médias na vertical seguidas da mesma letra não diferem entre si, dentro do mesmo estágio, ao nível de 5% pelo teste SNK. (O número de picnídios foi transformado para  $\text{Log}(X + 1)$  para as análises).

/1 = diâmetro médio das três maiores lesões da folha (em mm).

/2 = número médio de picnídios das três maiores lesões da folha.

### C A P Í T U L O    I I I

VIRULÊNCIA DE ISOLADOS DE *Septoria lycopersici* SPEG. EM  
*Lycopersicon* SPP.

## 1 - ABSTRACT

Nine isolates of *Septoria lycopersici* Speg, causal agent of Septoria leaf spot of tomato, were screened for the virulence against a wild tomato species (*Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. - PI 126445 - CNPH 416) and cultivated tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill) at partially controlled conditions in a greenhouse. Disease was evaluated by measuring lesion diameter and counting the number of picnidia per lesion. The virulence was found to be uniform against the susceptible checks (*L. esculentum* - CNPH 507 and CNPH 530) and the range of virulence, as observed in the resistant check (CNPH 416), was almost a continuous one. No physiological races were detected amongst the isolates, therefore any of them can be used to screen tomatoes for resistance to Septoria leaf spot.

## 2 - RESUMO

Nove isolados de *Septoria lycopersici* Sepg. foram avaliados quanto à virulência em uma espécie selvagem de tomate (*Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. - PI 126445) e em tomateiros cultivados (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sob condições parcialmente controladas de casa-de-vegetação. A virulência dos isolados foi uniforme nos padrões suscetíveis (*L. esculentum*) e apresentou uma variação quase contínua no padrão resistente (*L. hirsutum*). Os resultados indicam a ausência de diferentes raças entre estes isolados e, portanto, qualquer um deles pode ser usado na avaliação da resistência de tomate à septoriose.

### 3 - INTRODUÇÃO

Uma das hipóteses levantadas para tentar explicar o conflito de resultados obtidos por diferentes autores quanto à resistência de introduções de tomate à septoriose tem-se baseado numa possível diferença na virulência dos isolados usados nos trabalhos (Cook, 1954; Maluf et al., 1985). Macneill (1950a,b) relatou a existência de pelo menos duas raças fisiológicas do fungo com base na diferença de virulência contra o material resistente (M6, S25 e SWST - seleções de "Targinnie Red"). No entanto, nenhuma das duas raças conseguiu provocar o mesmo dano nestes materiais (ainda que diferissem entre si) que provocaram no genótipo suscetível ("Bonny Best").

Cook (1954) comparando oito isolados regionais da América do Norte de *Septoria lycopersici* Speg. encontrou diferenças significativas quanto à virulência. Porém, a variação em relação às diferentes introduções de tomate inoculadas ocorreu de maneira semelhante para todos os isolados. Já Kurozawa (1972), testando seis isolados de São Paulo deste fungo, relatou diferenças significativas (1%) entre isolados, genótipos e para a interação entre isolados e genótipos. Entretanto, seus isolados também não foram tão virulentos para os materiais resistentes quanto o foram para os suscetíveis.

Este trabalho teve como objetivo conhecer o comportamento de diferentes isolados de *Septoria lycopersici* Speg., obtidos principalmente na região geo-econômica do Distrito Federal, quanto à virulência contra genótipos de *Lycopersicon* spp.

#### 4 - MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições parcialmente controladas de casa-de-vegetação. O substrato utilizado para cultivar as plantas foi uma mistura de solo, areia (ou palha de arroz queimada), adubo orgânico e fertilizante químico (N-P-K 4-14-8). A mistura foi submetida ao tratamento com brometo de metila, de acordo com Reifschneider et al. (1989). As sementes foram tratadas com uma solução de  $KNO_3$  a 0,4%, por dez minutos, para uniformizar a germinação. As plântulas foram transplantadas das sementeiras para os recipientes definitivos dos experimentos no estágio de uma folha verdadeira expandida. Foram feitas fertilizações adicionais com N-P-K 10-10-10, quando se julgou necessário pela aparência geral das plântulas.

As introduções utilizadas foram fornecidas pela Coleção de Germoplasma de Tomate do CNPH. Como padrão de resistência foi usado o genótipo CNPH 416, da espécie *Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. (PI 126445), que apresenta frutos verdes de cerca de 1,5 cm de diâmetro, originário do lado oeste dos Andes, na América do

Sul. Como padrão suscetível foram usados o CNPH 507 ("IPA-5"), da espécie *Lycopersicon esculentum* Mill., do tipo indústria, de crescimento determinado, muito cultivado no Brasil e o CNPH 530 ("NC-EBR2"), *L. esculentum*, do tipo mesa, de crescimento indeterminado.

Os nove isolados utilizados foram colhidos de folhas de tomates oriundas de plantios atacados localizados dentro de um raio de cerca de 200 Km de Brasília - DF, representativo da principal região onde a septoriose é importante no Brasil. Os isolados foram preservados em culturas axênicas em tubos com BDA, a 4° C. Foram cadastrados na coleção de trabalho do Laboratório de Fitopatologia do CNPH sob os seguintes números (origem - mês/ano de coleta): 348 (CNPH, DF - 10/89); 349 (Itapaci, GO - 10/89); 350 (UnB, DF - 10/89); 351 (Brasilinha, GO - 10/89); 352 (CNPH, DF - 01/90); 358 (Núcleo Rural de Vargem Bonita, DF - 02/90); 366 (N. R. de Pípiripau, DF - 05/90); 378 (N. R. de Santa Maria, DF - 06/90); 379 (N. R. de Taquara, DF - 06/90).

O inóculo utilizado foi colhido de culturas de aproximadamente três semanas de idade cultivadas em tubos com BDA, a 25° C, sob luz contínua. A inoculação foi feita por pulverização de 50 ml de suspensão com uma concentração de  $7 \times 10^3$  conídios por ml. Uma parcela foi pulverizada com água como testemunha. As plantas foram deixadas por 48 horas em câmara úmida, após a inoculação.

As avaliações foram feitas através da contagem do número de picnídios, sob lupa, e medição do diâmetro, com paquímetro, das 3 maiores lesões da folha inoculada.

Devido às limitações de espaço na câmara úmida que impossibilitou a avaliação simultânea de todos os isolados, foram montados três experimentos no delineamento em parcelas subdivididas. No primeiro experimento, foram usadas três repetições. As parcelas foram constituídas por caixas contendo três subparcelas com uma linha de três plantas de cada um dos genótipos. Em cada parcela, as plantas, no estágio de duas folhas verdadeiras, foram inoculadas com um dos isolados 348, 349, 351, 352, 358 e 366. Os blocos foram avaliados aos 8, 9 e 10 dias após a inoculação, um a cada dia.

No segundo experimento, foi repetida a metodologia anterior para comparar os isolados 348, 349, 350, 351 e 358. Foram feitas quatro repetições. As plantas foram inoculadas no estágio de quatro folhas verdadeiras. Apenas se avaliou pelo número de picnídios das três maiores lesões, no 10º dia após a inoculação, pois o valor de F na análise de variância para o diâmetro das lesões se mostrou muito alto para diferenciar as interações no experimento anterior.

No terceiro experimento foi mantida exatamente a mesma metodologia do segundo experimento para comparar os isolados 348, 352, 378 e 379.



## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância do primeiro experimento revelou diferenças significativas, ao nível de 5%, quanto ao diâmetro de lesões, entre isolados e entre genótipos, mas não para a interação de isolados e genótipos. Apenas o isolado 358 diferiu estatisticamente dos demais, pelo teste de Student-Neuman-Kol (SNK), a 5% (Figura 2). Quanto ao número de picnídios, foi possível diferenciar significativamente os genótipos ( $P < 1\%$ ). Nenhum dos isolados foi tão virulento ao CNPH 416 como o foram para os genótipos suscetíveis (Figura 3).

No segundo experimento, houve diferença significativa entre isolados ( $P < 5\%$ ), entre genótipos ( $P < 1\%$ ) e também para a interação de genótipos e isolados ( $P < 1\%$ ). No padrão resistente, o isolado que produziu mais picnídios foi o 348, mas não diferiu dos isolados 350 e 358 (SNK a 5%). Os isolados se comportaram de maneira semelhante ao experimento anterior, apresentando a mesma virulência em relação aos padrões suscetíveis (Figura 4).

No terceiro experimento, foi detectada pela análise de variância diferença significativa entre genótipos ( $P < 1\%$ ), mas não entre isolados. A diferença também não foi significativa para a interação de genótipos e isolados (Figura 5).

Apesar da interação detectada nas análises do segundo experimento, de uma maneira geral, os isolados se comportaram de maneira semelhante nos três experimentos. Foi observada uma variação quase contínua na virulência dos isolados ao padrão resistente. No entanto, nenhum isolado causou um nível de dano ao padrão resistente semelhante ao causado aos padrões suscetíveis.

Pelos resultados, não se pode classificar os diferentes isolados avaliados neste trabalho dentro do conceito de raças fisiológicas (Király et al., 1975). Pelas pequenas diferenças entre os isolados pode-se dizer que eles não se comportaram, quanto às interações com os genótipos, a semelhança do descrito por Van der Plank (1968) para raças de patógenos que interagem (significativamente) com variedades do hospedeiro. Além do que, neste caso, os genótipos de tomate não eram apenas variedades diferentes, mas espécies diferentes. Isso e a presença aparente de gens modificadores (Lincoln & Cummins, 1949) impossibilita classificar o tipo de resistência de *L. hirsutum*, conferido pelo provável gen "Se" (Andrus & Reynard, 1945; Lincoln & Cummins, 1949), como "resistência vertical".

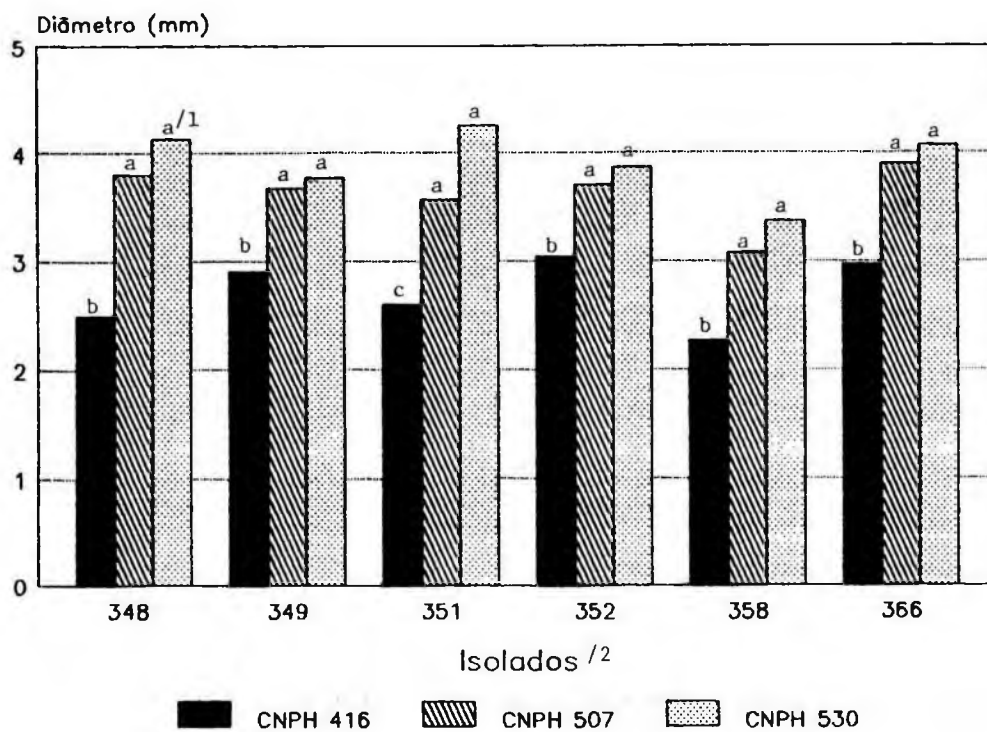
Segundo Nelson (1973), a "resistência não específica" caracteriza-se quando o hospedeiro resiste à colonização e ao crescimento do parasita, embora o processo de infecção seja completo, com reprodução do parasita. Não há uma reação uniforme das raças do patógeno contra a resistência. O efeito maior da

resistência sobre as raças do patógeno é o mesmo, mas há variação no grau de funcionamento contra cada raça. Pelos resultados obtidos neste trabalho, que estão de acordo com os obtidos por Kurozawa (1972) e Macneill (1950a,b), a variabilidade dos isolados e suas interações com as espécies de tomate mostraram que a resistência à septoriose presente no CNPH 416 se aproximaria melhor do conceito de "resistência não específica", apresentado por Nelson (1973), do que de qualquer outro até agora apresentado, embora não se tenha definido raças para *S. lycopersici*.

Como nenhum dos isolados até hoje estudados (Macneill, 1950a,b; Cook, 1954; Kurozawa, 1972) tenha "quebrado" a resistência dos padrões resistentes, causando a mesma reação que nos padrões suscetíveis, qualquer um desses isolados poderia ser usado na avaliação da resistência à septoriose.

Não foram encontradas, neste trabalho, evidências que confirmassem a hipótese de "quebra" da resistência de introduções que teria causado diferentes resultados em avaliações feitas por diferentes autores (Cook, 1954; Maluf et al., 1985). Talvez, houvesse a necessidade de um estudo populacional amplo (Van der Plank, 1975) deste patógeno para se entender melhor suas interações com o hospedeiro e garantir a eficiência na avaliação e incorporação da resistência dos genótipos de *Lycopersicon* spp.

FIGURA 2. Diâmetro das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com seis isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de três repetições.



/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si, dentro do mesmo isolado (SNK a 5%). C.V. = 12%.

/2 Isolado - origem - data de coleta:

348 - CNPH, DF - 10/89

349 - Itapaci, GO - 10/89

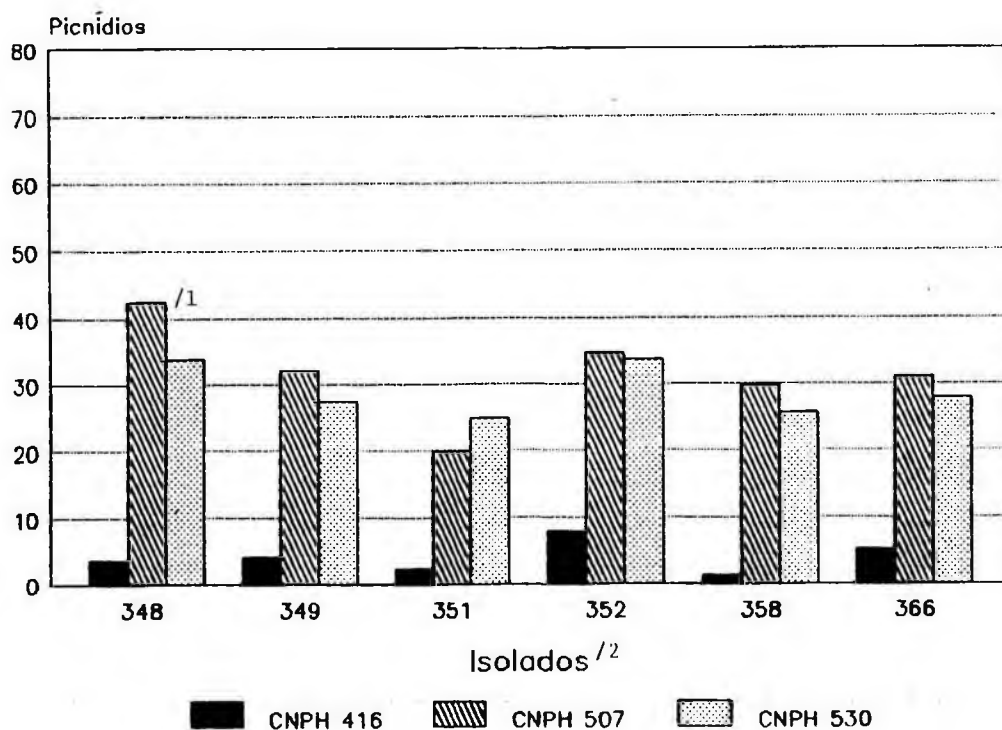
351 - Brasília, GO - 10/89

352 - CNPH, DF - 01/90

358 - Núcleo Rural de Vargem Bonita, DF - 02/90

366 - W. R. de Pípiripau, DF - 05/90.

FIGURA 3. Número de picnidios das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com seis isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de três repetições.



/1 A análise de variancia não mostrou diferença significativa ( $P=5\%$ ) para a interação de genótipos e isolados nem para isolados, mas apenas para genótipos.

/2 Isolado - origem - data de coleta:

348 - CNPH, DF - 10/89

349 - Itapaci, GO - 10/89

351 - Brasília, GO - 10/89

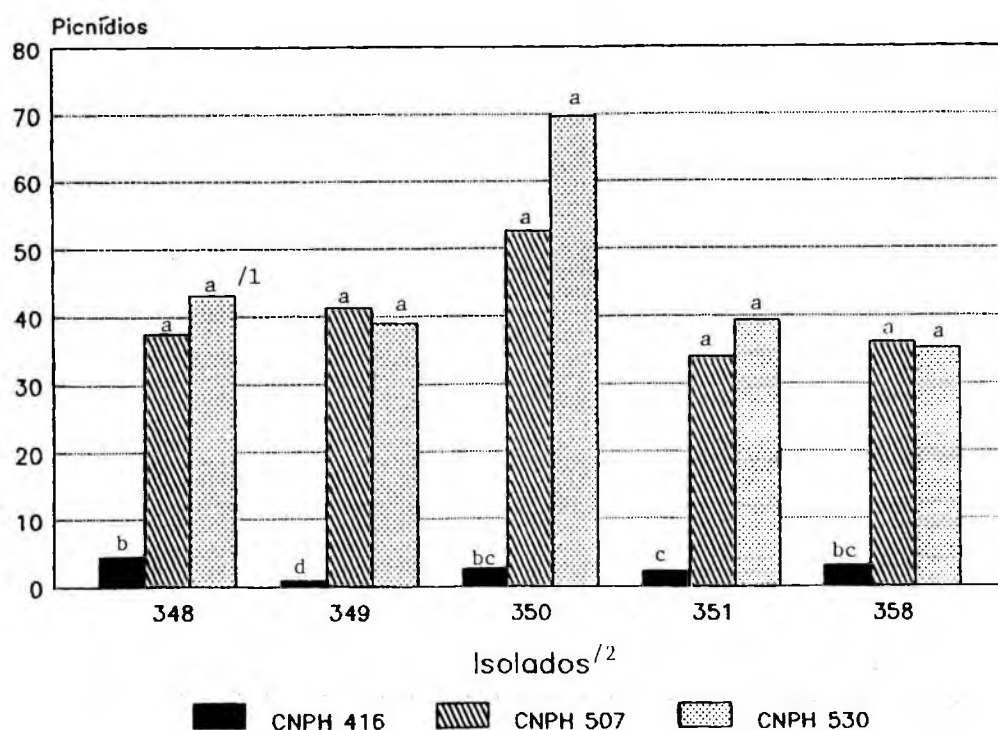
352 - CNPH, DF - 01/90

358 - Núcleo Rural de Vargem Bonita, DF - 02/90

366 - M. R. de Pipiripau, DF - 05/90.

FIGURA 4. Número de picnídios das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com cinco isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de quatro repetições.





/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si (SNK a 5%), C.V. = 10%.

/2 Isolado - origem - data de coleta:

348 - CNPH, DF - 10/89

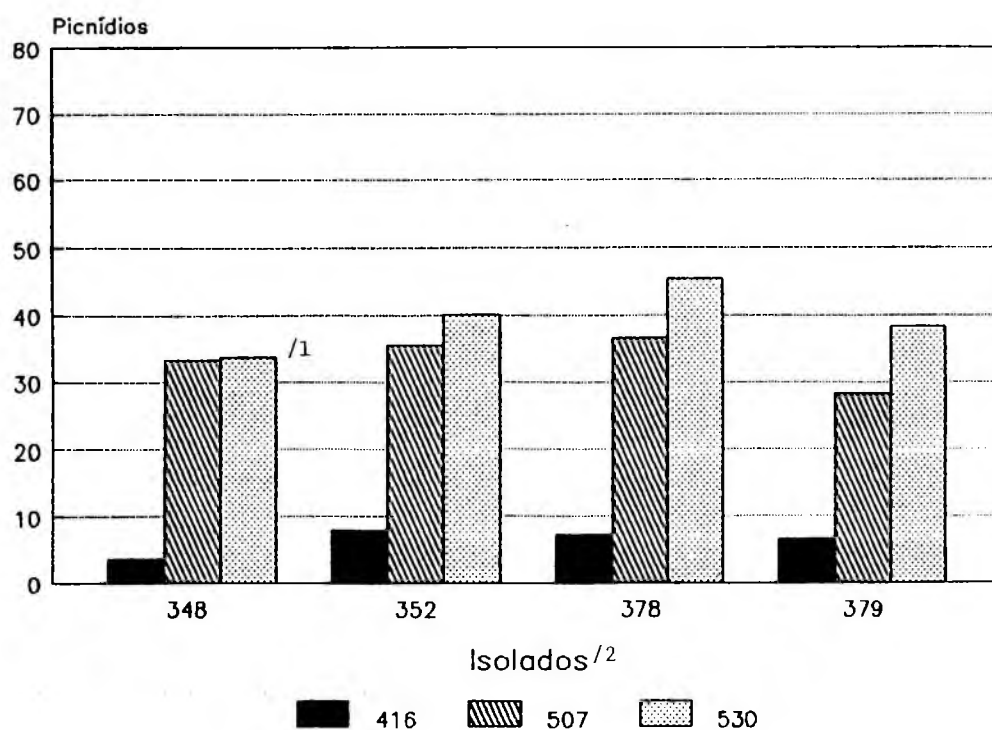
349 - Itapaci, GO - 10/89

350 - UnB, Brasília, DF - 10/89

351 - CNPH, DF - 01/90

358 - Núcleo Rural de Vargem Bonita, DF - 02/90

FIGURA 5. Número de picnídios das três maiores lesões em folhas de tomateiro (genótipos CNPH 416, CNPH 507 e CNPH 530) inoculadas com quatro isolados de *Septoria lycopersici* Speg. Média de quatro repetições.



/1 A análise de variancia não mostrou diferença significativa ( $P=5\%$ ) para a interação de genótipos e isolados nem para isolados, mas apenas para genótipos. (C.V.=12%).

/2 Isolado - origem - data de coleta:

348 - CNPH, DF - 10/89

352 - CNPH, DF - 01/90

378 - Núcleo Rural de Santa Maria, DF - 06/90

379 - N. R. de Taquara, DF - 06/90.

## C A P Í T U L O    I V

AVALIAÇÃO    DA    RESISTÊNCIA    DE    GENÓTIPOS    DE  
*Lycopersicon* SPP. A *Septoria lycopersici* SPEG.

## 1 - ABSTRACT

In order to confirm reports and/or to detect sources of resistance to *Septoria* leaf spot of tomato (caused by *Septoria lycopersici* Speg.), 32 *Lycopersicon* accessions were evaluated under partially controlled greenhouse conditions. The amount of disease was measured by different parameters including by counting the number of picnidia per lesion. Only the wild green-fruited species were found to have satisfactory levels of resistance, namely PI 126445, PI 127826, and PI 127827 (*L. hirsutum* Humb. & Bonpl.), PI 126449, and PI 134418 (*L. hirsutum* f. *glabratum* Mull.). F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> and other populations of the cross PI 126445 x CNPH 335 ("Silvestre de Altamira" - *L. esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray.) were screened for *Septoria* leaf spot resistance. Plants of these populations with the same level of resistance of the resistant parent were selected.

## 2 - RESUMO

A fim de se confirmar ou detectar fontes de resistência à septoriose, foram avaliadas trinta e duas introduções de *Lycopersicon* spp. sob condições parcialmente controladas de casa-de-vegetação. A doença foi avaliada principalmente pelo número de picnídios por lesão. Apenas as espécies de *L. hirsutum* Humb. & Bonpl (PI 126445, PI 127826 e PI 127827) e de *L. hirsutum* f. *glabratum* Mull. (PI 126449 e PI 134418) mostraram níveis de resistência satisfatórios. Populações ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_1$  e de outros cruzamentos) do padrão resistente CNPH 416 (PI 126445) cruzado com *L. esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray. (CNPH 353) foram avaliadas quanto à resistência à septoriose. Foram selecionadas plantas nas populações  $F_2$ ,  $RC_1$  e de outros cruzamentos com mesmo nível de resistência do progenitor resistente.

### 3 - INTRODUÇÃO

Desde o primeiro trabalho publicado de avaliação de variedades de tomate em busca de resistência à septoriose (Alexander, 1935) não se conseguiu entre as variedades de *Lycopersicon esculentum* Mill. nenhuma com nível de resistência satisfatório. Butler (1938) relata suas observações sobre a resistência de diversas introduções de tomate a doenças, mas não indicou nenhum genótipo com resistência à septoriose. A partir de 1940 (Lincoln & Cummins, 1949), diversos autores tem relatado a resistência à septoriose entre espécies selvagens de tomate, originários dos Andes, na América do Sul, principalmente do Chile e Peru (Capítulo I - Tabela 8).

O primeiro genótipo relatado com resistência à septoriose foi o PI 126445, da espécie *L. hirsutum* Humb. & Bonpl. (Wright et al., 1940 in Lincoln & Cummins, 1949). Andrus & Reynard (1945) selecionou uma planta da variedade "Targinnie Red" que apresentava lesões do tipo resistente e que provavelmente havia se originado de um cruzamento natural entre *L. esculentum* e *L. hirsutum*. A resistência deste material foi confirmada mais tarde por Lincoln & Cummins (1949) e Barksdale & Stoner (1978). Outros genótipos das espécies *L. hirsutum*, *L. pimpinellifolium* (Jusl.) Mill., *L. peruvianum* (L.) Mill., *L. cheesmanii* Riley e *L. chilense* Dun. também tem sido relatados com resistência à

septoriose (Capítulo I - Tabela 8). Entretanto, tem havido diversas controvérsias sobre a resistência de alguns desses materiais. Por exemplo, o PI 127827 (*L. hirsutum*) que foi tido como tão resistente quanto o PI 126445 por Alexander et al. (1942), por Locke (1949) e por Maluf et al. (1985), foi considerado como suscetível Lincoln & Cummins (1949), por Cook (1954) e não diferiu ( $P=5\%$ ) das introduções de *L. esculentum* nas avaliações de Kurozawa & Balmer (1977c). Do mesmo modo, o PI 126449 e o PI 134418 foram relatados por Locke (1949) como resistentes, mas Lincoln & Cummins (1949) os classificou como suscetível. Não se encontrou, até o presente, nenhuma referência de cultivar com resistência à septoriose que tenha se originado dos genótipos descritos acima.

Uma outra importante fonte de resistência à septoriose foi identificada por Barksdale & Stoner (1978). Este genótipo é o PI 422397, da espécie *L. pimpinellifolium* (Jusl.) Mill. Echim et al. (s.d.) confirmaram, na França, a resistência deste genótipo. Barksdale (1982) relatou que, num experimento de campo, algumas progênies ( $F_4$ ) deste material retrocruzado para *L. esculentum* foram tão resistentes quanto o progenitor resistente. Nesse trabalho ficou confirmada, em campo, a eficiência das seleções feitas em casa-de-vegetação, mas foram obtidas respostas significativamente diferentes entre algumas das linhagens testadas.



A resistência de tomate à septoriose parece ser controlada por um fator genético com herança dominante simples (Andrus & Reynard, 1945; Lincoln & Cummins, 1949; Barksdale & Stoner, 1978). O gen de resistência foi denominado "Se" por Andrus & Reynard (1945). Porém, devido à perda de parte da resistência do progenitor em gerações avançadas do melhoramento, foi levantada a hipótese da existência de gens modificadores envolvidos na herança da resistência (Lincoln & Cummins, 1949).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, sob condições parcialmente controladas, a resistência de alguns genótipos da Coleção de Germoplasma do CNPH (principalmente os relacionados como portadores do gen "Se"), do ensaio nacional de tomate de indústria, das gerações  $F_1$ ,  $F_2$  e  $RC_1$  e de diversos cruzamentos envolvendo o padrão resistente CNPH 416, *L. hirsutum* (PI 126445), bem como selecionar, nas gerações  $F_2$  e  $RC_1$  destes cruzamentos, possíveis plantas resistentes à septoriose para continuação da incorporação desta resistência em *L. esculentum*.

#### 4 - MATERIAL E MÉTODOS

As plantas usadas nos experimentos foram cultivadas em um substrato composto pela mistura de solo, areia (ou casca de arroz queimada), adubo orgânico e fertilizante químico (4-14-8). O substrato foi submetido ao tratamento com brometo de metila, de acordo com Reifschneider & Cobbe (1989). Foram feitas

fertilizações suplementares com N-P-K 10-10-10 quando se julgou necessário. As sementes foram tratadas com uma solução de  $\text{KNO}_3$  a 0,4% por dez minutos, para uniformizar a germinação. As inoculações foram feitas através da pulverização de uma suspensão de conídios coletados de colônias de aproximadamente três semanas, cultivadas em BDA. Os isolados de *S. lycopersici* usados foram o 348 e o 352 da coleção do laboratório de Fitopatologia do CNPH, coletados no campo do próprio CNPH, em cultura de tomate. As testemunhas foram pulverizadas com água estéril. Quando o experimento foi conduzido em casa de vidro, as plantas foram colocadas em câmara úmida por 48 horas. No caso de estufa de plástico, não foi necessário câmara úmida, pois a umidade à noite foi sempre maior que 90% no interior da mesma.

#### 4.1. AVALIAÇÃO DE INTRODUÇÕES DE *Lycopersicon* SPP.

A fim de avaliar a resistência de introduções de *Lycopersicon* spp. à septoriose, foram montados três experimentos. O detalhamento destes experimentos constam da Tabela 14 (Experimentos 1, 2 e 3).

A descrição das introduções de *Lycopersicon* spp. avaliadas neste trabalho consta da Tabela 15.

A avaliação pela contagem de conídios do lavado das três folhas medianas feita no Experimento 2 seguiu a metodologia

descrita por Barksdale & Stoner (1978). Foram feitas trinta contagens no hemacitômetro (Câmara de Newbauer) por parcela.

#### 4.2. AVALIAÇÃO DE POPULAÇÕES ORIUNDAS DO PADRÃO RESISTENTE (CNPH 416).

A fim de se iniciar o estudo da herança da resistência à septoriose e de se iniciar um programa de incorporação da resistência em cultivares de tomate para indústria, foram executados, em telado e estufa, cruzamentos recíprocos entre o padrão de resistência (CNPH 416) e diversos genótipos de *Lycopersicon* spp. Foram usadas cinco plantas de cada genótipo. Um esquema dos cruzamentos realizados e das populações avaliadas quanto à resistência à septoriose consta da Figura 6. Pelo total insucesso com o pegamento dos frutos dos cruzamentos entre o CNPH 416 e o cultivar escolhido para o programa, o CNPH 507 (IPA-5), foram usados outros progenitores para servirem como ponte para os gens de resistência.

A avaliação da resistência à septoriose e seleção de plantas resistentes na geração  $F_2$  (Figura 6A) foi feita no Experimento 4, detalhado na Tabela 15. Para a geração  $RC_1P_1$  (Figura 6A) e  $F_1P_3$  (Figura 6B), a avaliação e a seleção de ambas foram feitas conjuntamente, no Experimento 5, cujo detalhamento consta da Tabela 14.

## 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento os genótipos da espécie *L. esculentum* foram mais suscetíveis do que os da espécie *L. hirsutum*, pois apresentaram significativamente, a 5%, mais picnídios em suas lesões. O genótipo CNPH 103 apresentou um número intermediário de picnídios (Figura 7). Os resultados estão de acordo com os dados de Alexander et al. (1942), Locke (1949) e Maluf et al. (1985) quanto a resistência dos genótipos CNPH 416, CNPH 420 e CNPH 421.

No segundo experimento os genótipos CNPH 103 e CNPH 417 apresentaram um número intermediário de picnídios e o genótipo CNPH 30 não diferiu do padrão resistente ( $P=5\%$ ), quanto aos picnídios (Figuras 8). Porém, quanto à produção de conídios, o CNPH 103 e o CNPH 30 não diferiram estatisticamente do padrão suscetível, juntamente com os demais genótipos da espécie *L. esculentum*, enquanto o CNPH 417 não diferiu do padrão resistente (Figura 9). Os híbridos  $F_1$  e o CNPH 424 não diferiram do padrão de resistência nem no número de picnídios nem na produção de conídios (Figuras 8 e 9). Esta avaliação feita aos 50 dias após a inoculação (d.a.i.) teve resultados semelhantes às realizadas antes do 12º d.a.i. nos demais experimentos, porém com um número menor de picnídios em cada genótipo. As análises mostraram alta correlação positiva entre as avaliações quando

calculadas pelo número de picnídios das três maiores lesões e pela concentração de conídios no lavado das folhas ( $r = 0,678$ ,  $P < 1\%$ ).

No terceiro experimento nenhum dos genótipos diferiu significativamente (5%) do padrão suscetível e todos diferiram do padrão resistente, quanto ao número de picnídios (Figura 10). Quanto ao diâmetro de lesão, nenhum genótipo teve média significativamente (5%) menor que o padrão suscetível, inclusive o padrão resistente (Figura 11). Estes resultados estão de acordo com a hipótese de que diferentes critérios de avaliação podem gerar diferentes avaliações da resistência de um mesmo genótipo (Maluf et al., 1985). A resistência das introduções de *L. hirsutum* apontada por diversos autores (Capítulo I - Tabela 8), mas não confirmada por Lincoln & Cummins (1949), Cook (1954) e Kurozawa (1972), foi encontrada nos genótipos CNPH 416, CNPH 420 e CNPH 421, confirmando os resultados obtidos por Alexander et al. (1942), Locke (1949) e Maluf et al. (1985).

Dos cruzamentos interespecíficos efetuados, apenas em alguns, nos quais se usou *L. esculentum* como progenitor feminino, foi obtido sucesso no pegamento dos frutos. Das vinte e cinco plantas  $F_1$  cultivadas, apenas duas (do cruzamento de CNPH 353 e CNPH 416) produziram frutos, e apenas dois frutos em cada planta. As sementes  $F_2$  apresentaram uma baixa taxa de germinação, algumas plântulas não se desenvolveram, outras apresentaram desenvolvimento raquítico e apenas onze estavam em condições de serem avaliadas quanto à resistência à septoriose. No

Experimento 4, sete genótipos  $F_2$  apresentaram médias de picnídios menores do que a média do padrão resistente, quatro ficaram com médias intermediárias entre o padrão resistente e os padrões suscetíveis (Tabela 16).

No quinto experimento, foram selecionadas quatro plantas da geração  $RC_1$  (15%) e oito da geração  $F_1P_3$  (33%) que apresentaram médias do número de picnídios menores que a média do padrão resistente, isto é, menos que cinco picnídios por lesão. Foram considerados resistentes os vinte e seis genótipos que tiveram as médias menores ou igual a 10,6 picnídios (maior média do padrão resistente); intermediários os onze genótipos que tiveram as médias maiores que 10,6 e menores que 16 picnídios; e suscetíveis os treze que tiveram médias maiores ou iguais a 16 picnídios (menor média do padrão suscetível) (Figuras 12 e 13).

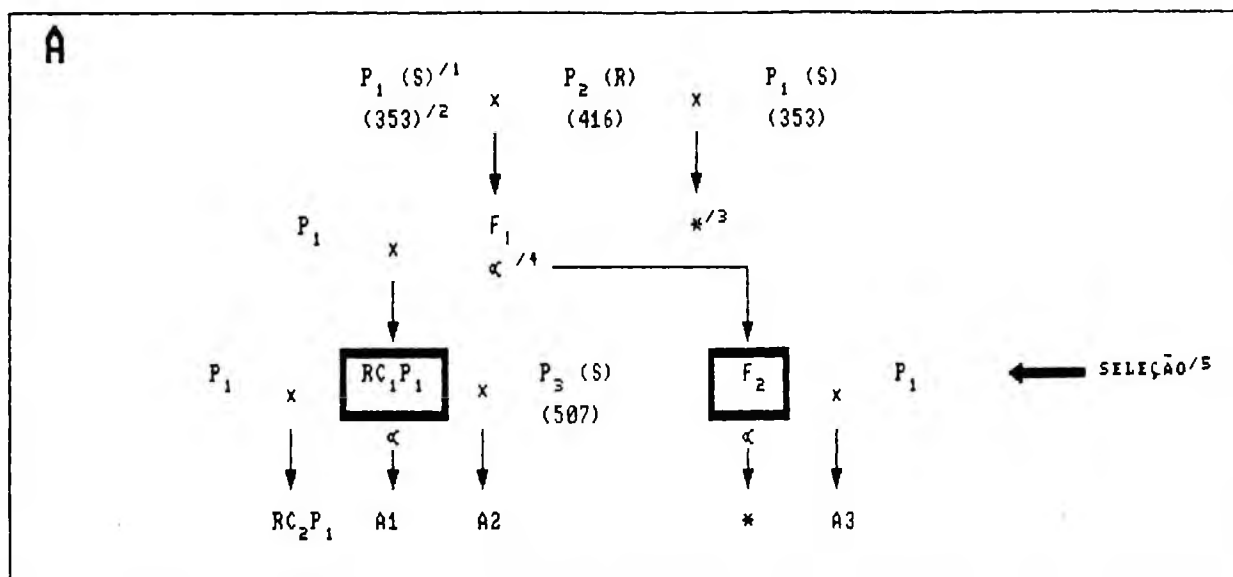
A identificação, neste trabalho, de genótipos nas gerações  $F_2$  e  $RC_1$  com reação intermediária corroboraram a hipótese de gens modificadores na herança da resistência de tomate à septoriose (Lincoln & Cummins, 1949). Estes resultados também estão de acordo com os dados relatados por Barksdale & Stoner (1978) que encontraram reação intermediária entre introduções tidas como resistentes e com Barksdale (1982) que identificou linhagem com reação intermediária na geração  $F_4$  do seu programa de melhoramento. Por outro lado, não se verificaram perdas de resistência nas progênies produzidas, como as perdas relatadas por Lincoln & Cummins (1949). Pelo critério

quantitativo utilizado neste trabalho, foi possível identificar genótipos, nas gerações  $F_2$  e  $RC_1$ , com maior ou igual grau de resistência que a média do padrão resistente (CNPH 416), de maneira semelhante ao relatado por Barksdale (1982). O número de plantas da geração  $F_2$  e  $RC_1$  não foi suficientemente grande para permitir a análise da herança da resistência à septoriose.

Algumas plantas selecionadas nas gerações  $RC_1$  e  $F_1P_3$  apresentaram boa compatibilidade nos cruzamentos com *L. esculentum* var. *cerasiforme* (CNPH 353), e também com *L. esculentum* cultivar tipo indústria (CNPH 507). Algumas autofecundações também foram efetuadas com êxito. Espera-se, com estes cruzamentos, dar continuidade ao programa de incorporação da resistência à septoriose em *L. esculentum*, e que o uso da variedade "Silvestre de Altamira" (CNPH 353) como ponte para o gens da resistência à septoriose possa facilitar a obtenção, no futuro, de uma cultivar de tomate tipo indústria com resistência múltipla às doenças, incluindo a septoriose e a pinta-preta causada por *Alternaria solani* Sorauer.

FIGURA 6. Esquema de cruzamentos do programa de incorporação da resistência à septoriose de *Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl. (CNPH 416) em planta de tomate tipo industria *Lycopersicon esculentum* Mill.





/1 (S)- PROGENITOR SUSCETÍVEL,  
(R)- PROGENITOR RESISTENTE.

/2 NÚMERO DO REGISTRO DOS GENÓTIPOS DA CO-  
LEÇÃO DE GERMOPLASMA DE TOMATE DO CNPM.

/3 \* INSUCESSO NA OBTENÇÃO DAS SEMENTES.

/4  $\alpha$  AUTOFECAUNDAÇÃO.

/5 SELEÇÕES FEITAS NOS EXPERIMENTOS 4 E 5  
COM BASE NA MÉDIA DO PADRÃO RESISTENTE  
(CNPM 416).

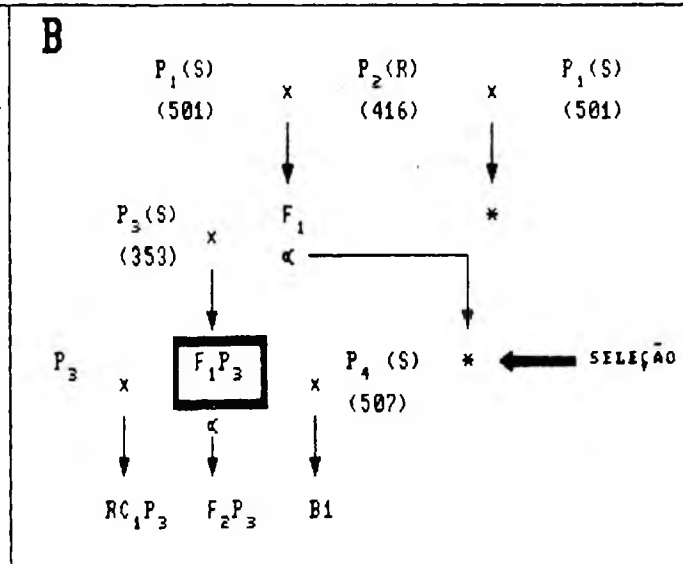
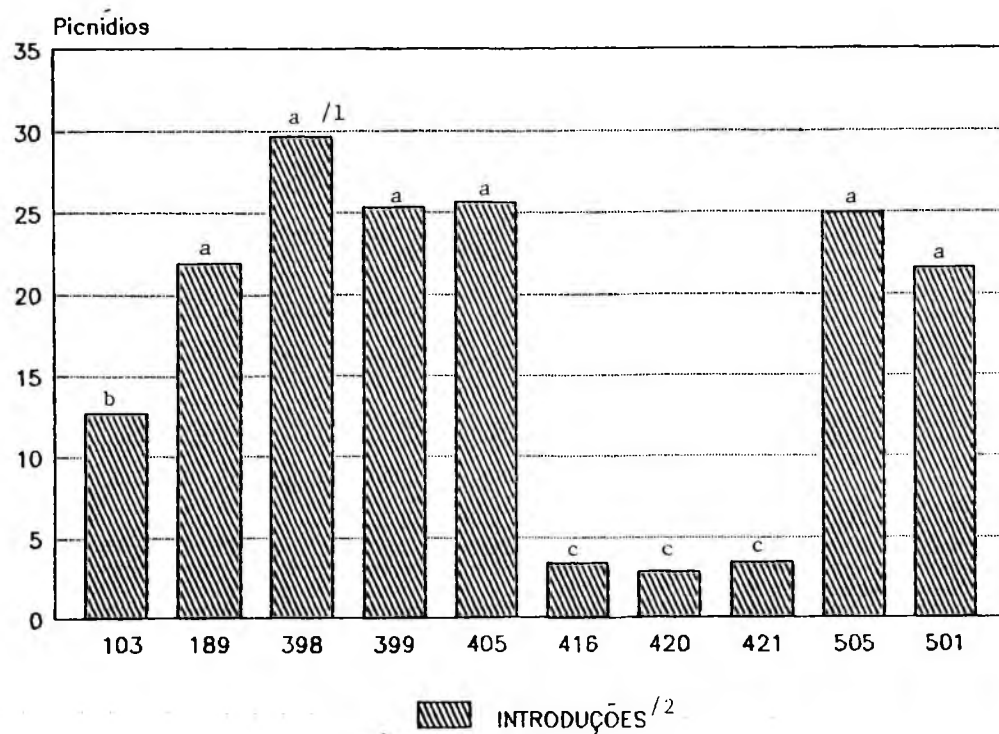


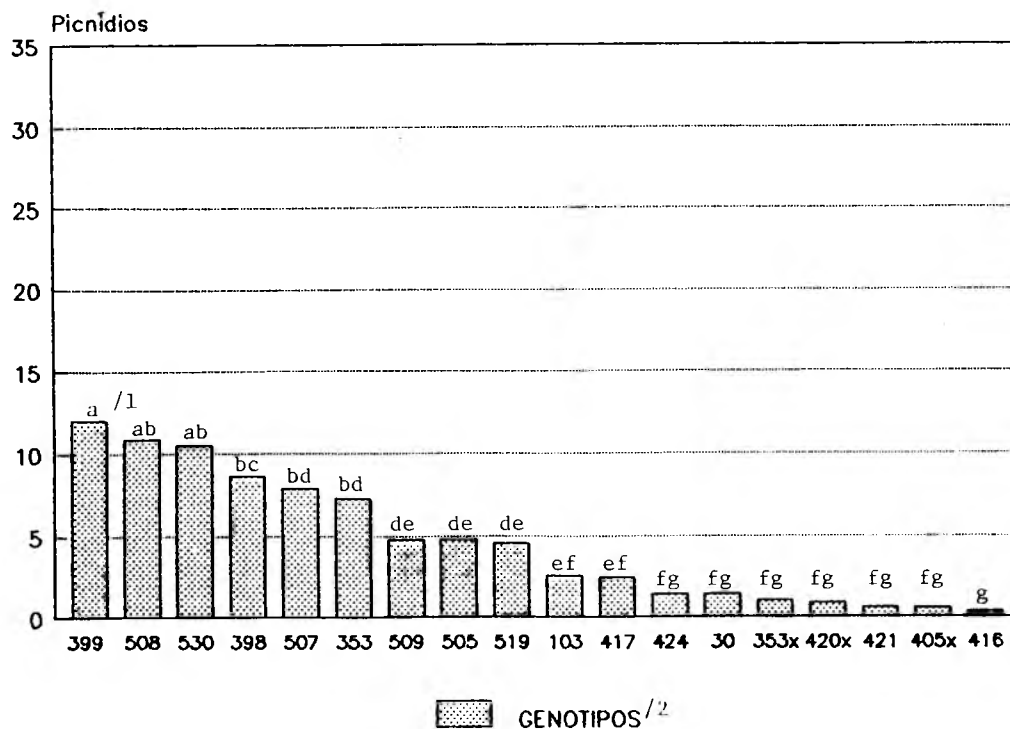
FIGURA 7. Avaliação da resistência de dez introduções de tomate à septoriose através do número de picnídios das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 1). Média de cinco repetições.



/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si (SNK 5%).

/2 Genótipos: 103 = "Red Cherry" (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray); 189 = PI 365920, 398 = "College Abundant", 399 = "College Red", 405 = "Olho Roxo", 501 = "Lada Gigante" e 505 = "Satan" (*Lycopersicon esculentum* Mill); 416 = PI 126445, 420 = PI 127826 e 421 = PI 127827 (*L. hirsutum* Humb. & Bonpl.).

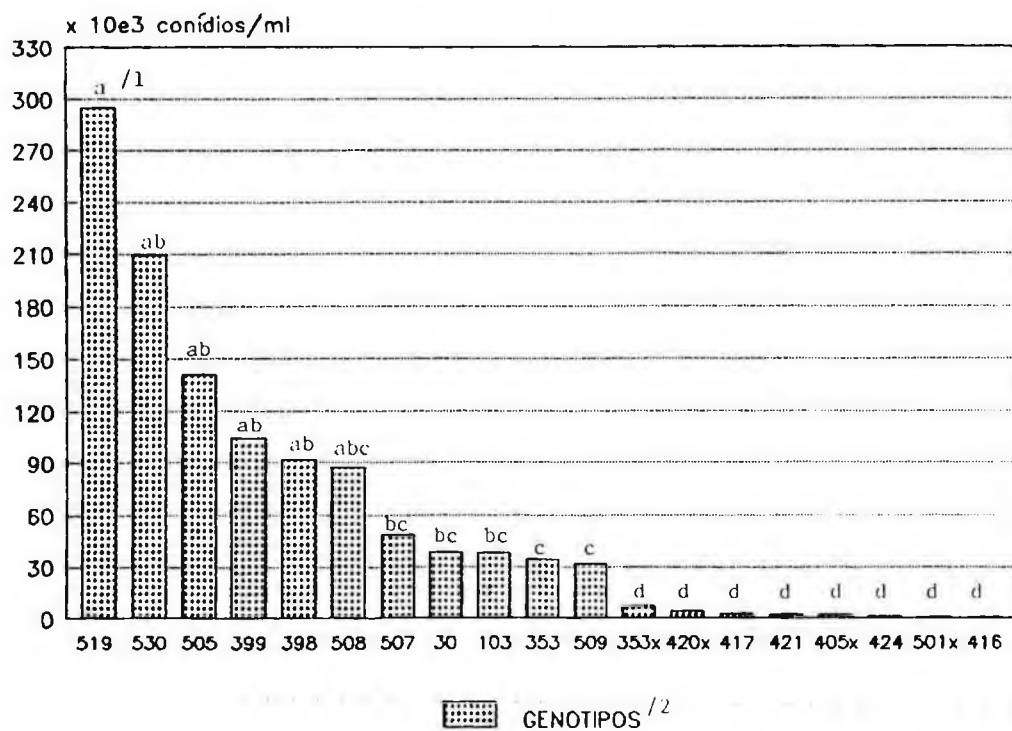
FIGURA 8. Avaliação da resistência de dezoito genótipos de tomate à septoriose através do número de picnídios das três maiores lesões nas folhas (Experimento 2). Média de seis repetições.



/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si (SNK 5%).

/2 Genótipos: 103 = "Red Cherry" (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray), 353 = "Silvestre de Altamira", 398 = "College Abundant", 399 = "College Red", 505 = "Satan", 507 = "IPA-5", 508 = "NC-EBR1", 509 = "NC-EBR2", 519 = "Sunny" e 530 = "NC-EBR2" (*L. esculentum* Mill.); 416 = PI 126445 e 421 (*L. hirsutum* Humb. & Bonpl.); 417 = PI 126449 e 424 = PI 134418 (*L. hirsutum* f. *glabratum* Mull.); e os híbridos F<sub>1</sub> entre 353x416, 405x416, 420x416 e 501x416.

FIGURA 9. Avaliação da resistência de dezenove genótipos de tomate à septoriose através da concentração de conídios no lavado das folhas. (Experimento 2). Média de seis repetições.

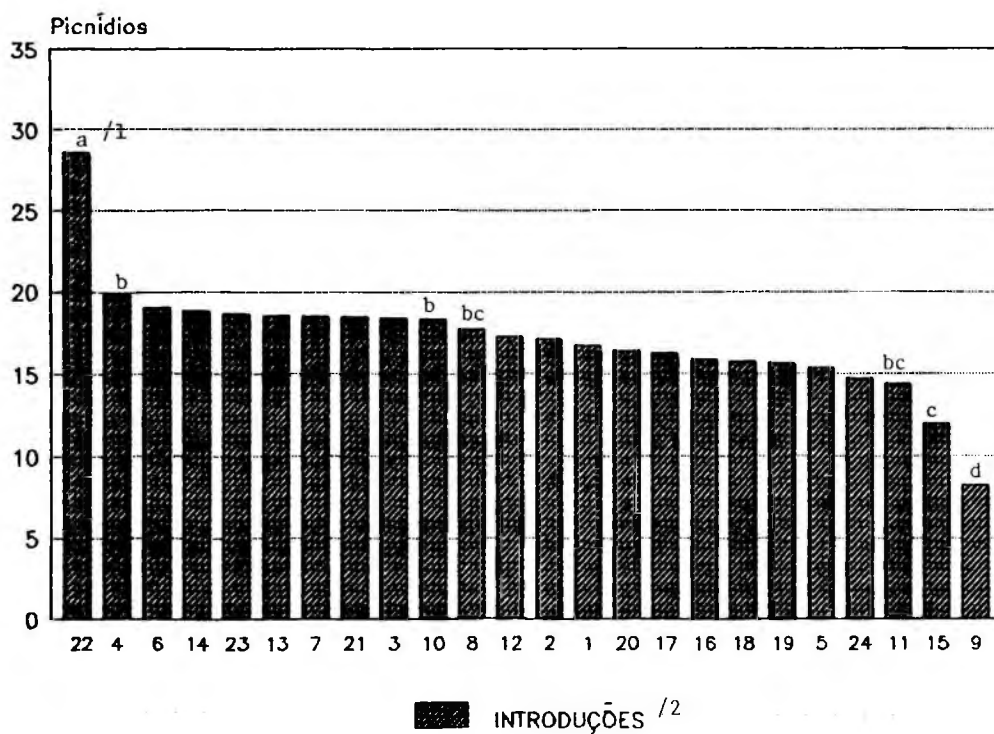


/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si (SNK 5%).

/2 Genótipos: 103 = "Red Cherry" (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray), 353 = "Silvestre de Altamira", 398 = "College Abundant", 399 = "College Red", 505 = "Satan", 507 = "IPA-5", 508 = "MC-EBR1", 509 = "MC-EBR2", 519 = "Sunny" e 530 = "MC-EBR2" (*L. esculentum* Mill.); 416 = PI 126445 e 421 (*L. hirsutum* Humb. & Bonpl.); 417 = PI 126449 e 424 = PI 134418 (*L. hirsutum* f. *glabratum* Mull.); e os híbridos F<sub>1</sub> entre 353x416, 405x416, 420x416 e 501x416.

FIGURA 10. Avaliação da resistência de vinte e quatro introduções de tomate à septoriose através do número de picnídios das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 3). Média de três repetições.

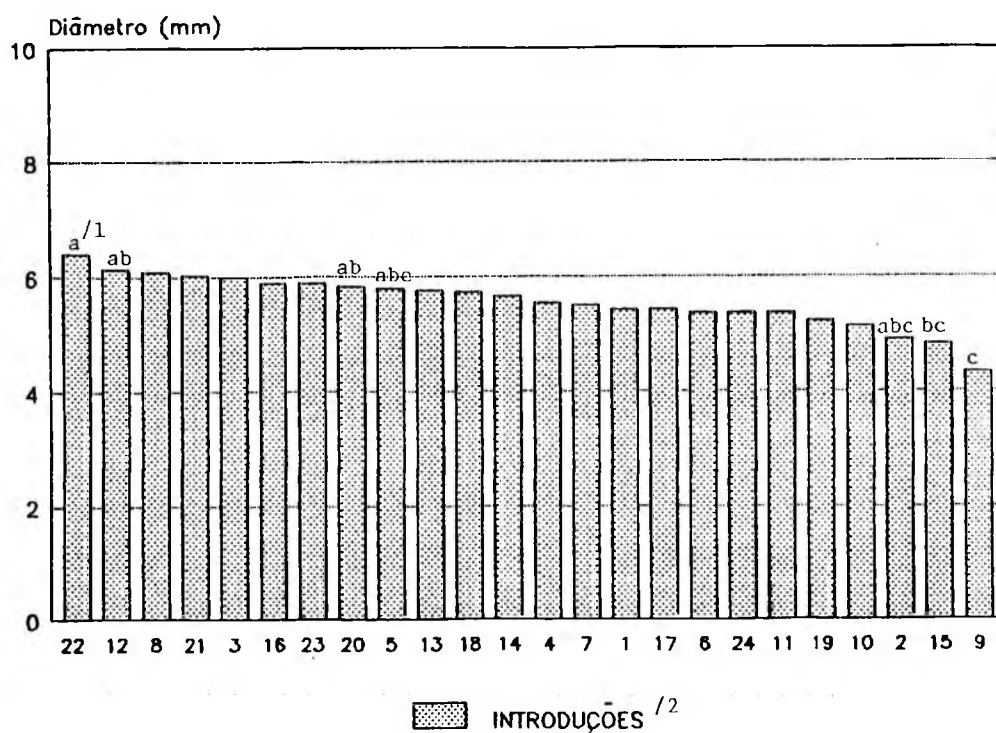




/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si (SNK 5%).

/2 Genótipos: 1 = 507 ("IPA-5"); 2 = 501 ("Nada Gigante") 3 = 103 ("Red Cherry"), 4 = 405 ("Olho Roxo"), 5 = 398 ("College Abundant"), 6 = 399 ("College Red"), 7 = 624 ("Ouro Velho"), 8 = 530 (NC-EBR2), 9 = 416 (PI 126445), 10 = 505 ("Satan"), 11 = 519 ("Sunny"), 12 = 508 ("NC-EBR1"), 13 = "Rio Grande", 14 = "Memadoro", 15 = "Rio Fuego", 16 = "Itaparica", 17 = "Rossol VHF", 18 = "Calmeç Gigante", 19 = "Calmeç VF", 20 = "Topmeç Melhorado", 21 = "Agrocica 72", 22 = "Agrocica B", 23 = "Santa Adelia" e 24 = "IPA-6".

FIGURA 11. Avaliação da resistência de vinte e quatro introduções de tomate à septoriose através do diâmetro (mm) das três maiores lesões nas folhas. (Experimento 3). Média de três repetições.

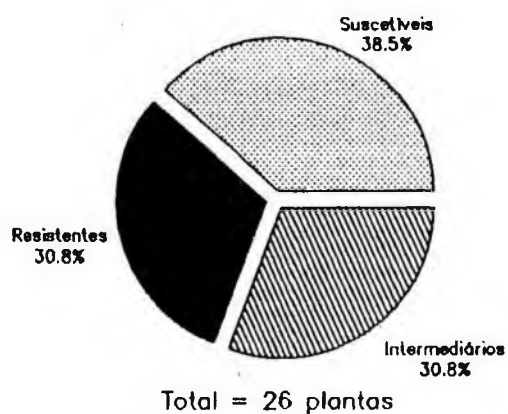


/1 Médias com a mesma letra não diferem entre si (SNK 5%).

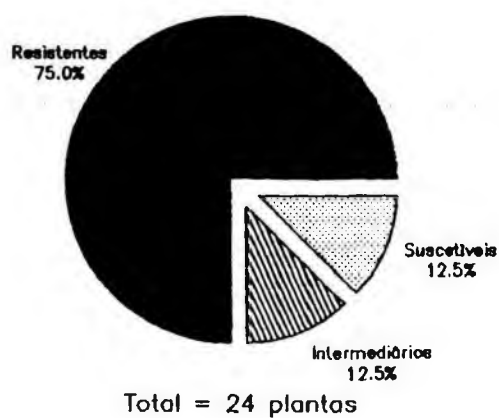
/2 Genótipos: 1 = 507 ("IPA-5"); 2 = 501 ("Kada Gigante"); 3 = 103 ("Red Cherry"); 4 = 405 ("Olho Roxo"); 5 = 398 ("College Abundant"); 6 = 399 ("College Red"); 7 = 624 ("Ouro Velho"); 8 = 530 (NC-EBR2); 9 = 416 (PI 126445); 10 = 505 ("Satan"); 11 = 519 ("Sunny"); 12 = 508 ("NC-EBR1"); 13 = "Rio Grande"; 14 = "Memadoro"; 15 = "Rio Fuego"; 16 = "Itaparica"; 17 = "Rossol VHF"; 18 = "Calmeo Gigante"; 19 = "Calmeo VF"; 20 = "Topmeo Melhorado"; 21 = "Agrocica 72"; 22 = "Agrocica 8"; 23 = "Santa Adélia" e 24 = "IPA-6".

FIGURA 12. Distribuição dos genótipos de *Lycopersicon* estudados neste trabalho quanto à resistência à septoriose. Classificação feita com base nos comportamentos dos padrões resistente (CNPH 416) e suscetível (CNPH 507), em cada experimento, pelo critério do número de picnídios por lesão.

## RC1



## F1P3



## INTRODUÇÕES

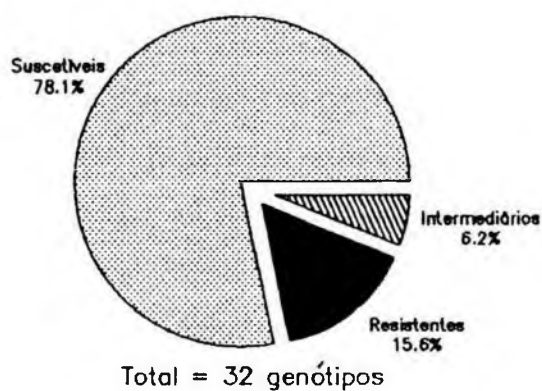


TABELA 14. Materiais e métodos dos experimentos de avaliação da resistência de genótipos de *Lycopersicon* spp. à septoriose.

|                         | Experimento 1                                     | Experimento 2                                                                                           | Experimento 3                                                                                                                   | Experimento 4                                         | Experimento 5                                                                                    |
|-------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Local                   | casa-de-vegetação                                 | estufa                                                                                                  | casa-de-vegetação                                                                                                               | casa-de-vegetação                                     | estufa                                                                                           |
| Delineamento            | blocos completos ao acaso c/ 5 rep.               | blocos completos ao acaso c/ 6 rep.                                                                     | blocos completos ao acaso c/ 3 rep.                                                                                             | inteiramente casualizado c/ 5 a 12 rep.               | inteiramente casualizado c/ 25 rep.                                                              |
| Tamanho da parcela      | quatro plantas                                    | uma planta                                                                                              | cinco plantas                                                                                                                   | uma planta                                            | uma planta                                                                                       |
| Estádio das plantas     | três folhas                                       | três folhas                                                                                             | duas folhas                                                                                                                     | quatro folhas                                         | quatro folhas                                                                                    |
| Isolado do fungo        | 348                                               | 348                                                                                                     | 348                                                                                                                             | 348 e 352                                             | 348 e 352                                                                                        |
| Concentração do inóculo | $10^5$ conídios/ml                                | $10^3$ conídios/ml                                                                                      | $10^4$ conídios/ml                                                                                                              | $8 \times 10^3$ conídios/ml                           | $5 \times 10^3$ conídios/ml                                                                      |
| Época de avaliação      | 12 d.a.i. <sup>/1</sup>                           | 50 d.a.i.                                                                                               | 10, 11 e 12 d.a.i.                                                                                                              | 10 d.a.i.                                             | 10 d.a.i.                                                                                        |
| Parâmetros de avaliação | picnídios das 5 maiores lesões nas folhas.        | picnídios das 3 maiores lesões e conídios no lavado de 3 folhas medianas.                               | diâmetro e picnídios das 3 maiores lesões nas folhas.                                                                           | picnídios das 3 maiores lesões nas folhas.            | picnídios das 5 maiores lesões nas folhas.                                                       |
| Genótipos avaliados     | 103, 189, 398, 399, 405, 501, 505, 416, 420, 421. | 30, 103, 353, 398, 399, 505, 507, 530, 416, 417, 421, 424; (405x416), (501x416), (420x416) e (353x416). | 507, 501, 103, 405, 398, 399, 624, 530, 416, 505, 519, 508, T1, T2, T3, T4, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12 e T13 <sup>/2</sup> . | 11 plantas F <sub>2</sub> (353x 416), 507, 530 e 416. | 26 plantas RC <sub>1</sub> <sup>/3</sup> , 24 plantas F <sub>1</sub> P <sub>3</sub> , 507 e 416. |

<sup>/1</sup> d.a.i. = dia após a inoculação.

<sup>/2</sup> Tn<sup>0</sup> = genótipo do ensaio nacional de tomate para indústria.

<sup>/3</sup> Detalhes dessas populações constam da Figura 6.

TABELA 15. Descrição das introduções de *Lycopersicon* spp. avaliadas quanto à resistência à septoriose.

| Código    | "Pedigree"              | Espécie                                                   | Tipo                                   |
|-----------|-------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| CNPH/1 30 | "IPA-3"                 | <i>L. esculentum</i> Mill.                                | mesa, determinado/2.                   |
| CNPH 189  | PI 365920               | <i>L. esculentum</i>                                      |                                        |
| CNPH 103  | "Red Cherry"            | <i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i> (Dun.) Gray. | frutos vermelhos com 3 cm de diâmetro. |
| CNPH 353  | "Silvestre de Altamira" | <i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>              | frutos vermelhos com 3 cm de diâmetro. |
| CNPH 398  | "College Abundant"      | <i>L. esculentum</i>                                      | mesa, indeterminado.                   |
| CNPH 399  | "College Red"           | <i>L. esculentum</i>                                      | mesa, indeterminado.                   |
| CNPH 405  | "Olho Roxo"-IPA         | <i>L. esculentum</i>                                      | mesa, determinado.                     |
| CNPH 416  | PI 126445               | <i>L. hirsutum</i> Humb. & Bonpl.                         | frutos verdes com 1,5 cm de diâmetro.  |
| CNPH 417  | PI 126449               | <i>L. hirsutum</i> f. <i>glabratum</i> Mull.              | frutos verdes com 1,5 cm de diâmetro.  |
| CNPH 420  | PI 127826               | <i>L. hirsutum</i>                                        | frutos verdes com 1,5 cm de diâmetro.  |
| CNPH 421  | PI 127827               | <i>L. hirsutum</i>                                        | frutos verdes.                         |
| CNPH 424  | PI 134418               | <i>L. hirsutum</i> f. <i>glabratum</i>                    | frutos verdes com 1,5 cm de diâmetro.  |
| CNPH 501  | "Kada Gigante"          | <i>L. esculentum</i>                                      | mesa, indeterminado.                   |
| CNPH 505  | "Satan"                 | <i>L. esculentum</i>                                      | mesa, indeterminado.                   |
| CNPH 507  | "IPA-5"                 | <i>L. esculentum</i>                                      | indústria (VNFSt).                     |
| CNPH 508  | "NC-EBR1"               | <i>L. esculentum</i>                                      | mesa, indeterminado.                   |

(continua na página seguinte)

/1 código da Coleção de Germoplasma de Tomate do CNPH/EMBRAPA.

/2 refere-se ao hábito de crescimento da planta.

/3 código do ensaio nacional de tomate para indústria de 1990.

(continuação da Tabela 15)

| Código   | "Pedigree"            | Especie              | Tipo                 |
|----------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| CNPH 509 | "NC-EBR2"             | <i>L. esculentum</i> | mesa, indeterminado. |
| CNPH 519 | "Sunny"               | <i>L. esculentum</i> | mesa, indeterminado. |
| CNPH 530 | "NC-EBR2"             | <i>L. esculentum</i> | mesa, indeterminado. |
| CNPH 624 | "Ouro Velho"          | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T1/3     | "Rio Grande"          | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T2       | "Nemadoro"            | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T3       | "Rio Fuego"           | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T4       | "Itaparica"           | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T5       | "Rossol VNF"          | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T6       | "Calmec<br>Gigante"   | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T7       | "Calmec VF"           | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T8       | "Topmec<br>melhorado" | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T9       | "Agrocica 72"         | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T10      | "Agrocica 8"          | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T11      | "Santa Adélia"        | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |
| T13      | "IPA-6"               | <i>L. esculentum</i> | indústria.           |

/1 código da Coleção de Germoplasma de Tomate do CNPH/EMBRAPA.

/2 refere-se ao hábito de crescimento da planta.

/3 código do ensaio nacional de tomate para indústria de 1990.



TABELA 16. Avaliação da resistência de genótipos de tomate à septoriose. Geração F<sub>2</sub> da progênie de *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (Dun.) Gray (CNP 353) e *L. hirsutum* Humb. & Bonpl. (CNP 416). (Experimento 4).

| GENÓTIPO       | PLANTA | NÚMERO DE PICNÍDIOS |
|----------------|--------|---------------------|
| F <sub>2</sub> | 1      | 27 <sup>/1</sup>    |
|                | 2      | 22                  |
|                | 3      | 15                  |
|                | 4      | 14                  |
|                | 5      | 10                  |
|                | 6      | 0                   |
|                | 7      | 0                   |
|                | 8      | 0                   |
|                | 9      | - (sem lesão)       |
|                | 10     | - (sem lesão)       |
|                | 11     | - (sem lesão)       |
| CNP 530        |        | 44 <sup>/2</sup>    |
| CNP 507        |        | 34 <sup>/2</sup>    |
| CNP 416        |        | 12 <sup>/3</sup>    |

/1 Média das três maiores lesões nas folhas.

/2 Média das três maiores lesões nas folhas (doze plantas).

/3 Média das três maiores lesões nas folhas (cinco plantas).

## R E S U M O

A fim de se padronizar uma metodologia eficiente para a avaliação da resistência de tomate (*Lycopersicon* spp.) à septoriose, causada por *Septoria lycopersici* Speg., foram estudados diversos componentes da metodologia de avaliação. Os meios que mais produziram conídios foram os de folhas de tomate e o de cenoura. A concentração ideal de inóculo ficou entre  $10^3$  e  $10^4$  conídios/ml. Os métodos de pulverização e aplicação do inóculo com rolo de espuma foram considerados melhores que o pincelamento e o mergulho das folhas. As plântulas no estágio de quatro folhas foram mais suscetíveis que as plântulas no estágio de duas folhas e no estágio de folhas cotiledonares. Foi possível conservar o inóculo por mais de oito meses através da liofilização de uma suspensão de picnídios e conídios.

Não foram detectadas raças distintas entre os nove isolados de *Septoria lycopersici* avaliados quanto à virulência. A virulência dos isolados foi uniforme nos padrões suscetíveis (*L. esculentum* Mill.) e apresentou uma variação quase contínua no padrão resistente (*L. hirsutum* Humb. & Bonpl.).

Apenas as espécies de *L. hirsutum* (PI 126445, PI 127826 e PI 127827) e de *L. hirsutum* f. *glabratum* Mull. (PI 126449 e PI 134418) mostraram níveis satisfatórios de resistência

'a septoriose. Foram selecionadas plantas nas populações oriundas de diversos cruzamentos do padrão resistente (PI 126445) com *L. esculentum* Mill. com o mesmo nível de resistência do progenitor resistente dando continuidade a um programa de incorporação da resistência 'a septoriose em tomate tipo indústria.

## S U M M A R Y

In order to standardize an efficient methodology to evaluate tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistance to Septoria leaf spot, caused by *Septoria lycopersici* Speg., several methodological components were studied. The media that had the biggest production of conidia were the ones made with tomato leafs and the one made with carrot. The best inoculum concentration was  $10^3 - 10^4$  conidia/ml. The spraying method and the application of inoculum with a painter foam-roller gave better results than the leaf dipping and the brush application methods. The seedlings with four true leaves were more susceptible than the ones with just two true leaves and the ones with only the cotyledonary leaves.

The virulence of nine isolates of *S. lycopersici* was found to be uniform against the susceptible checks (*L. esculentum* Mill.) and the range of virulence, as observed in the resistant check (PI 126445), was almost a continuous one. No physiological races were detected amongst the isolates, therefore any of them can be used to screen tomatoes for resistance to septoria leaf spot.

In order to confirm reports and/or to detect sources of resistance to septoria leaf spot of tomato, 32 *Lycopersicon*

accessions were evaluated under partially controlled greenhouse conditions. Only the wild green-fruited species were found to have satisfactory levels of resistance, namely PI 126445, PI 127826, and PI 127827 (*L. hirsutum* Humb. & Bonpl.), PI 126449, and PI 134418 (*L. hirsutum* f. *glabratum* Mull.). Populations of several crosses PI 126445 x *L. esculentum* Mill. were screened for septoria leaf spot resistance. Plants of these populations with the same level of resistance as the resistant parent were selected in order to continue a industrial tomato breeding program for resistance to Septoria leaf spot.

## L I T E R A T U R A   C I T A D A

- ABRAI, Associação Brasileira para a Agricultura Irrigada.  
Recomendações Técnicas para o cultivo de tomate Industrial.  
Brasília, Textos Técnicos, n.3. 1989. 28 p.
- ALEXANDER, L. J. Survey of tomato varieties for resistance to  
Septoria leaf spot. Ohio Agric. State Bull. (548):32-  
53. 1935.
- ALEXANDER, L. J.; LINCOLN, R. E. & WRIGHT, V. A survey of the  
genus *Lycopersicon* for resistance to the important tomato  
diseases occurring in Ohio and Indiana. Plant Disease  
Reporter Suppl. 136. 1942.
- ALEXANDER, L. J. & HOOVER, M. M. Disease resistance in wild  
species of tomato. Ohio Agric. Exp. Sta Res. Bull.  
752. 1955. 76p.
- ALEXANDER, L. J. Progress report of national screening committee  
for disease resistance in the tomato for 1954-1957. Plant  
Disease 43(1)(Sum). 1959.
- ANDES, O. J. Difference in susceptibility of tomato varieties to  
Septoria and Macrosporium leaf spots. Phytopathology  
29:750. 1939.

- ANDRUS, C. F. & REYNARD, G. B. Resistance to *Septoria* leaf spot and its inheritance in tomato. *Phytopathology* 35:16-24. 1945.
- BARKSDALE, T. H. & STONER, A. K. Segregation for horizontal resistance to tomato early blight. *Plant Disease* 37(11):964-965. 1973.
- BARKSDALE, T. H. & STONER, A. K. A study of the inheritance of tomato early blight resistance. *Plant Disease* 61(2):63-65. 1977.
- BARKSDALE, T. H. & STONER, A. K. Resistance in tomato to *Septoria lycopersici*. *Plant Disease* 62:844-847. 1978.
- BARKSDALE, T. H. *Septoria* leaf spot of tomato controlled in the field by resistance. *Phytopathology* 71(7):764. 1981.
- BARKSDALE, T. H. Control of an epidemic of *Septoria* leaf spot of tomato by resistance. *Plant Disease* 66(3):239-240. 1982.
- BELL, A. A. Plant pest interaction with environmental stress and breeding for pest resistance. In: CRISTIANSEN, M. N. & LEWIS, C. F. Breeding plants for less favorable environments. Capítulo 11a pag 335. 1982.
- BLUM, L. E. B. Seleção de Eucalipto Resistente ao Tombamento e à Mancha Foliar Causados Por *Cylindrocladium clavatum* e *C. scoparium*. Brasília, Universidade de Brasília, Departamento de Biologia Vegetal. 1989. (Tese de Mestrado). 69p.

- BUENO, J. T. & ROSSI, W. L. Controle químico da requeima, nanha de estenfilium, septoriose e da pinta preta do tomateiro. *Fitopatologia brasileira* 14(2):134. 1989. (resumo).
- BURNETT, H. L. & HUNTER, B. B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess, Minneapolis, E.U.A. 3ª ed. 1972. 241p.
- BUTLER, H. F. Tomato Importations for Breeding. *Proc. Amerc. Soc. Hort. Sci.* 36:674-676. 1938.
- CHAUHAN, M. S. Reaction of tomato varieties to leaf spots and fruit rots in Haryana. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology* 17(3)355. 1987.
- CMI, COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. Distribution Maps Of Plant Diseases. Map Nº 108. 1982.
- COBBE, R. V. Reavaliando as Hortaliças. *Horticultura Brasileira* 1(2):10-17. 1983.
- COOK, A. D. Reaction of *Lycopersicon* species to regional isolates of *Septoria lycopersici*. *Phytopathology* 44:374-377. 1954.
- COURTNEY, W. H.; BANFIELD, G. E. & GRAY, V. T. Tomato cultivar trials. *Hortic. Res. Inst. Ont. Res. Rep.* 68. 1983. 22pp.
- DATAR, V. V. & LOWKAN, S. G. Inheritance of resistance in tomato early blight. *J. Maharashtra Agric. Univ.* 10(3): 357-358. 1985.



- DAY, P. R. Genetics of Host-Parasite Interaction. W. H. Freeman and Company, San Francisco, USA. 1974. 238p.
- DHINGRA, O. D. & SINCLAIR, J. B. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1985. 355 p.
- DIAS, S. C. Morte Precoce do Maracujazeiro Amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) Causada Por Patógenos que afetam a Parte aérea da Planta. Brasília, Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia. 1990. 158p. (Tese de Mestrado)
- DOOLITTLE, S. P. The use of wild *Lycopersicon* species for tomato disease control. *Phytopathology* 44:409-414. 1954.
- ECHIM, T.; MANDRICEL, M. & MIRGHIS, E. La caractérisation des certaines sources de resistance des tomates vis-à-vis de *Septoria lycopersici* et *Alternaria solani*. *Bull. Acad. Sci. Agric. For.* n. 11:83-87. s.d.
- ENDRINAL, D. M. & RELINO, M. S. *Septoria* leaf spot of tomato. *Philipp. Agric.* (29):593-610. 1940.
- ERINLE, I. D.; QUINN, J. G. & OYEJOLA, B. Effect of a fungicide spray programme on performance of ten tomato cultivars in Northern Nigeria. *Tropical Pest Management* 32(2):111-114. 1986.
- FAO. FAO Production Yearbook 1987. vol. 41. Roma, Italia. 352p. 1988.

- FARBER, V. V. & VLASOVA, E. A. Sources of resistance in tomatoes to *Septoria* in Amur province. *Sbornik Nauchnykh Trudov po Prikladnot Botanike, Genetike i selektsii* 118,27-31. 1988.
- FILGUEIRA, F. A. R. Manual de Olericultura. Ed. Agronômica Ceres LTDA, SP., vol II. 1982.
- GARDNER, R. G. NC EBR-1 and NC EBR-2 Early Blight Resistant Tomato Breeding Lines. *HortScience* 23(4):779-781. 1988.
- GEORGOPOULOS, S. G. & SKYLAKAKIS, G. Genetic variability in the fungi and the problem of fungicide resistance. *Crop Protection* 5(5):299-305. 1986.
- GOMEZ, K. A. & GOMEZ, A. A. Statistical Procedures for Agricultural Research. John Wiley & Sons, USA. 1984.
- IBGE. Anuário Estatístico do Brasil. vol. 29, Rio de Janeiro. 1969.
- IBGE. Anuário Estatístico do Brasil. vol. 39, Rio de Janeiro. 1979.
- IBGE. Anuário Estatístico do Brasil. vol. 49, Rio de Janeiro. 716 p. 1989.
- INOUE, A. K.; MALNATI, W. D. & REIFSCHNEIDER, F. J. B. Efeito da idade de plantas, época de avaliação e da concentração de inóculo no estudo da resistência de tomate (*Lycopersicon* spp.)

à *Alternaria solani*. *Fitopatol bras.*  
14(2):150. 1989a. (resumo).

INOUE, A. K.; MALNATI, W. D. & REIFSCHNEIDER, F. J. B. Efeito da  
idade de plantas de tomate (*Lycopersicon* spp.) e da  
concentração de inóculo na avaliação da resistência à  
*Stemphylium* sp. *Fitopatol bras.* 14(2):150. 1989b. (resumo).

KIRÁLY, Z.; KLEMENT, Z.; SOLYMOSY, F. & VORÖS, J. Methods in  
Plant Pathology. Elsevier Scientific Publishing Company, N.Y.,  
N.Y. 1975. 509 p.

KUROZAWA, C. Variabilidade do agente causal da mancha foliar do  
tomateiro. Piracicaba, ESALQ. 1972. 72 p. (Tese de  
doutorado).

KUROZAWA, C. & BALMER, E. Efeito de fatores nutricionais,  
iluminação e de cepas na formação de "conídios secundários" de  
*Septoria lycopersici*. *Summa Phytopathologica* 3(1):59-  
65. 1977a.

KUROZAWA, C. & BALMER, E. Influência de fatores nutricionais na  
produção de picnídios, cirros e picnídios férteis de *Septoria*  
*lycopersici*. *Summa Phytopathologica* 3(1):52-58. 1977b.

KUROZAWA, C. & BALMER, E. Comportamento de cultivares nacionais,  
importados e de espécies selvagens de tomateiro em relação a  
*Septoria lycopersici*. *Summa Phytopathologica* 3(2):115-  
131. 1977c.

- LANCELOTTI, SILVIO. Utilização do tomate. *Super Interessante* 2:79-82. 1989.
- LINCOLN, R. G. & CUMMINS, G. B. Septoria blight resistance in the tomato. *Phytopathology* 39:647-655. 1949.
- LOCKE, S. B. Resistance in South American *Lycopersicon* species to early blight and septoria blight. *Phytopathology* 32:12. 1942. (Abst.)
- LOCKE, S. B. Resistance to early blight and Septoria leaf spot in the genus *Lycopersicon*. *Phytopathology* 39:829-836. 1949.
- LOCKE, S. B. A Method for Measuring Resistance to Defoliation Diseases in Tomato and Other *Lycopersicon* Species. *Phytopathology*. 38:937-942. 1948.
- MACNEILL, B. H. Studies in *Septoria lycopersici* Speg. *Canadian Journal of Research* 28:645-672. 1950a.
- MACNEILL, B. H. Studies in *Septoria lycopersici*. Abs. in *Phytopathology* 40:18. 1950b.
- MAIERO, M.; TIMOTHY, J. Ng. & BARKSDALE, T. M. Genetic Resistance to Early Blight in Tomato Breeding Lines. *Hortscience* 25(3):344-346. 1990.
- MALNATI, W. D.; INOUE, A. K. & REIFSCHNEIDER, F. J. B. Efeito da concentração de inóculo na avaliação da resistência de tomate à *Septoria lycopersici*. *Fitopatologia Brasileira* 15(2):147. 1990a. (resumo).

- MALNATI, W. D.; MESQUITA FILHO, M. C. & REIFSCHNEIDER, F. J. B. Parâmetros de avaliação de diferentes estádios fenológicos de plântulas de tomate infectados com *Septoria lycopersici*. *Fitopatologia Brasileira* 15(2):147. 1990b. (resumo).
- MALUF, W. R.; MIRANDA, J. E. C. & BITTENCOURT, C. Avaliação de resistência a septoriose em introduções de *Lycopersicon* spp. *Horticultura Brasileira* 3(1):9-11. 1985.
- MALUF, W. R. Uso de espécies selvagens no melhoramento do tomateiro. *Horticultura Brasileira* 3(1):46-51. 1985.
- MARTIN, W. H. Dissemination of *Septoria lycopersici* Speg. by insects and pickers. *Phytopathology* 8:365-372. 1918.
- MEINERS, J. P. Genetics of Disease Resistance in Edible Legumes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 21:189-209. 1981.
- MESQUITA FILHO, M. C.; MALNATI, W. D. & REIFSCHNEIDER, F. J. B. Detecção de fontes de resistência à pinta-preta (*Alternaria solani*) em tomate. *Fitopatologia Brasileira* 15(2):147. 1990. (resumo).
- MINAMI, K. & HAAG, H. P. O tomateiro. Campinas, SP, Fundação Cargil. 1979. 352 p.
- MULLER, C. H. A Revision of the Genus *Lycopersicon*. *Misc. Publication* 382, U.S. Dept. of Agriculture. 1940.
- NAGAI, H. Criação de variedades de tomate resistentes a viroses. *Fitopatologia Brasileira* 9(2):307-308. 1984.

- NASH, A. F. & GARDNER, R. G. Heritability to tomato early blight resistance derived from *Lycopersicon hirsutum* PI 126445. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113:264-268. 1988.
- NELSON, R. R. (ed.) Breeding Plants for Disease Resistance. Concepts and Applications. Pennsylvania State University. E.U.A. 1973. 401p.
- PRITCHARD, F. J. & PORTE, W. S. The relation of temperature and humidity to tomato leaf spot. *Phytopathology* 14:156-165. 1924.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B. & ARNY, D. C. A liquid medium for the production of *Kabatella zeae* conidia. *Canadian Journal of Microbiology* 25(9):1100-1102. 1979.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B. & COBBE, R. V. Doenças Identificação e Controle. *Produção de Hortalças no Vale do São Francisco*, vol 1. 1989.
- REYNARD, G. B. & ANDRUS, C. F. Inheritance of Resistance to the Collar-Roll Phase of *Alternaria solani* on Tomato. *Phytopathology* 35:25-36. 1945.
- RICK, C. M. Conservation of tomato species germoplasm. *California Agriculture* 31(7):32-33. 1977.
- SIMMONDS, N. W. Strategy of disease resistance breeding. *FAO Plant Protection Bulletin* 31(1):2-10. 1983.

- SOHI, M. S. & SOKHI, S. S. Morphological, physiological and pathological studies in *Septoria lycopersici*. **Indian Phytopathology** 26(4):666-673. 1974.
- SUTTON, B. C. & WATERSTON, J. M. *Septoria lycopersici*. CMI, **Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria** n. 89. 1966.
- SUTTON, B. C. The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Kew, Surrey, England. 1980. 696p.
- TEDLA, T. Effect of Captafol and Ridomil (R) Mz in the control of late blight (*Phytophthora infestans*) and *Septoria* leaf spot (*Septoria lycopersici*) on tomato. **Acta Horticulturae** 158: 389-399. 1985.
- TOKESHI, H. & CARVALHO, P. C. T. Doenças do Tomateiro - *Lycopersicon esculentum* Mill. in: GALLI, F. et all. Manual de Fitopatologia. S.P., Ed. Agronômica Ceres LTDA. 1980. vol II, capítulo 35. 587 p.
- TU, J. C. & POYSA, V. Method of inoculation for screening tomato seedlings for resistance to *Septoria lycopersici*. **Plant Disease** 74(4):294-297. 1990.
- TUITE, J. Plant Pathological Methods. Minneapolis, Minn., Burgess Publishing Company. 1969. 239 p.
- VAN DER GRAAFF, N. A. Breeding for stable resistance in tropical crops: strategies to maintain balanced pathosystems in modern agriculture. **FAO Plant Protection Bulletin** 27(1):1-6. 1979.

- VAN DER PLANK, J. E. Disease Resistance in Plants. Academic Press, N.Y. 1968. 206 p.
- VAN DER PLANK, J. E. Principles of Plant Infection. Academic Press, N.Y., N.Y. 1975. 216 p.
- VIEGAS, A. P. Mancha das folhas do tomateiro. *Bragantia* 21: 383-396. 1962.
- VLASOVA, E. A. & FARBER, V. V. Methods of appraising leaf spot resistance in tomato. *Sbornik Nauchnykh Trudov po Prikladnot Botanike, Genetike i selektsii* 92, 85-92. 1985.
- WANDERLEY, L. J. G.; FERRAZ, E. & MELO, P. C. T. IPA-3: nova cultivar de tomate de porte determinado para consumo ao natural. *Pesq. Agrop. Pernamb.* 4:107-112. 1980.
- WALTER, J. M. Hereditary resistance to disease in tomato. *Ann. Rev. Phytopathol.* 5:131-162. 1967.
- WARNOCK, S. J. A Review of Taxonomy and Phylogeny of the Genus *Lycopersicon*. *Hortscience* 23(4):669-673. 1988.
- WEBB, R. E.; BARKSDALE, T. H. & STONER, A. K. TOMATOES. IN: NELSON, R.R. Breeding Plants for Disease Resistance. Concepts and Applications. Pennsylvania State University. E.U.A. 1973. 401p.