



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA

**IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DE *Solanum* spp. (SEÇÃO
Lycopersicon) COM RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-VERTICÍLIO
(*Verticillium dahliae*) E À MANCHA-DE-ESTENFÍLIO (*Stemphylium
solani* E *S. lycopersici*)**

BRUNO EDUARDO CARDOZO DE MIRANDA

**BRASÍLIA, DF
2009**

FICHA CATALOGRÁFICA

Miranda, Bruno Eduardo Cardozo de
Identificação de acessos de *Solanum* spp. (seção *Lycopersicon*) com resistência à
murcha- de-verticílio (*Verticillium dahliae*) e à mancha-de-estenfílio (*S. solani* e *S.*
lycopersici)
Orientação: Ailton Reis. Brasília, 2009. 87 p.
100 pgs
Dissertação de mestrado (M) – Universidade de Brasília/ Departamento de
Fitopatologia, 2009.
1. *Solanum lycopersicum*. 2. *Verticillium dahliae*. 3. *Stemphylium*. 4. Resistência. I.
Reis, A. II. Título.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

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

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Bruno Eduardo Cardozo de Miranda

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Identificação de acessos de *Solanum* spp. (seção *Lycopersicon*) com resistência à murcha-de-verticílio (*Verticillium dahliae*) e à mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* e *S. lycopersici*)

GRAU: MESTRE ANO: 2009

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. Ao autor reserva-se os outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação pode ser reproduzida sem a autorização escrita do autor.

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DE *Solanum* spp. (SEÇÃO
Lycopersicon) COM RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-VERTICÍLIO (*Verticillium
dahliae*) E À MANCHA-DE-ESTENFÍLIO (*Stemphylium solani* E *S. lycopersici*)**

BRUNO EDUARDO CARDOZO DE MIRANDA

**Dissertação apresentada ao departamento de
Fitopatologia do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade de Brasília, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Fitopatologia**

**BRASÍLIA, DF
2009**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DE *Solanum* spp. (SEÇÃO
Lycopersicon) COM RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-VERTICÍLIO (*Verticillium
dahliae*) E À MANCHA-DE-ESTENFÍLIO (*Stemphylium solani* E *S. lycopersici*)**

BRUNO EDUARDO CARDOZO DE MIRANDA

Orientador: Ailton Reis

**Dissertação apresentada ao departamento de
Fitopatologia do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade de Brasília, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Fitopatologia**

**BRASÍLIA, DF
2009**

Trabalho executado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob a orientação do doutor Ailton Reis, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DE *Solanum* spp. (SEÇÃO

***Lycopersicon*) COM RESISTÊNCIA À MURCHA-DE-VERTICÍLIO (*Verticillium dahliae*) E À MANCHA-DE-ESTENFÍLIO (*Stemphylium solani* E *S. lycopersici*)**

Bruno Eduardo Cardozo de Miranda

APROVADA POR:

Ailton Reis, Eng. Agr., D. Sc.
Embrapa Hortaliças
Orientador
E-mail: ailton@cnph.embrapa.br

Adalberto Corrêa Café Filho, Eng. Agr., Ph. D.
Universidade de Brasília
Examinador interno
E-mail: cafefilh@unb.br

Carlos Alberto Lopes, Eng. Agr., Ph. D.
Embrapa Hortaliças
Examinador externo
E-mail: clopes@cnph.embrapa.br

Brasília – DF, 27 de Março de 2009

“Não podemos fazer grandes coisas na terra. Tudo o que podemos fazer são pequenas coisas com muito amor.”

Madre Tereza de Calcutá

**A Deus.
Aos meus familiares.
Aos meus amigos, especialmente Paulo Henrique (*in memoriam*).
Aos agricultores, pesquisadores e profissionais das ciências agrárias.**

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, Criador de todas as coisas, visíveis e invisíveis, que me deu oportunidades únicas e que não poderiam ser desperdiçadas. Agradeço também à Virgem Maria Mãe de Deus, Santa Catarina e à Santa Luzia por terem intercedido por mim junto ao Senhor, principalmente nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Antônio e Sebastiana, pelos esforços que me fizeram chegar aonde cheguei, à minha irmã Amanda, pela paciência nos momentos de nervosismo, e a todos os meus tios, primos, avós e aos outros familiares que sempre acreditaram em mim, mesmo nos lugares mais distantes.

À Embrapa Hortaliças, pela concessão do espaço para os experimentos e aos pesquisadores que colaboraram com este trabalho, especialmente ao doutor Ailton Reis, pela orientação deste trabalho, amizade, paciência e conselhos. Aos doutores Leonardo Silva Boiteux e Carlos Alberto Lopes pela valiosa colaboração neste trabalho.

Aos amigos que sempre confiaram em mim: Filipe, Bruno Lima, Jandson, Elizângela e família, João Paulo, ao pessoal do acampamento, catequese, entre tantos outros. Ao pessoal da faculdade, que sempre acreditou em meu potencial, em especial a Paulo Henrique (*in memorian*).

Aos técnicos do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças. Aos técnicos Helena, Eremita e Domingos, sempre dispostos a ajudar, e a Jocilene. À dona Francisca, pela amizade. Aos estagiários que por lá passaram e que estão por lá, alguns me ajudando de forma “braçal”: Carielli, Clodoaldo (Clô), Fabíola, Iury, Irene, Leonardo, Ângela e Eliane Terumi (as

japonesas), Wilson, Cléia, Manuela, Maurício, Bruno Barreto, Marília, Roseane, Lionara, Fernando, Sandra, Edivânio e tantos outros. Me desculpe se esqueci de alguém!

À Universidade de Brasília (UnB) pela oportunidade do curso de Mestrado. Ao departamento de Fitopatologia e aos seus funcionários, especialmente Ribamar e Kamila. Aos professores do departamento, pelos ensinamentos, especialmente ao prof. Café, entusiasta da Fitopatologia.

Aos colegas e amigos da pós-graduação em Fitopatologia, especialmente a Keize, Leonardo, Jaqueline, Paulo, Marcelo, Reinaldo, Uéllen e Sílvia, pelo convívio. Agradeço especialmente aos amigos Cristiane (“minha filha”), Leandro (Joe) e Rafael (Hã?) pela amizade, pelas brincadeiras e também pelos conselhos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

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

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| AGRADECIMENTOS..... | v |
| RESUMO GERAL..... | xi |
| ABSTRACT..... | xii |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 1 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 3 |
| REVISÃO DE LITERATURA..... | 5 |
| 1) O tomateiro..... | 5 |
| 2) Doenças do tomateiro..... | 7 |
| a) Murcha de <i>Verticillium dahliae</i> | 7 |
| a.1) A doença e o patógeno | 7 |
| a.2) Hospedeiros..... | 8 |
| a.3) Sintomas e epidemiologia..... | 9 |
| a.4) Controle..... | 11 |
| b) Mancha foliar de <i>Stemphylium</i> | 12 |
| b.1) A doença e o patógeno..... | 12 |
| b.2) Hospedeiros..... | 14 |
| b.3) Sintomas e epidemiologia..... | 15 |
| b.4) Controle..... | 16 |
| 3) Resistência genética à <i>Verticillium dahliae</i> e à <i>Stemphylium</i> em tomateiro..... | 17 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 19 |
| CAPÍTULO 1 – Busca de acessos de tomateiro [<i>Solanum</i> (secção <i>Lycopersicon</i>)] | |
| resistentes a <i>Verticillium dahliae</i> raças 1 e 2..... | 25 |
| Resumo..... | 26 |
| Abstract..... | 27 |
| 1. Introdução..... | 28 |
| 2. Material e Métodos..... | 30 |
| 3. Resultados..... | 33 |
| 4. Discussão..... | 35 |
| 5. Referências Bibliográficas..... | 41 |

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO 2 – Identificação de acessos do gênero <i>Solanum</i> (secção <i>Lycopersicon</i>) com resistência às espécies causadoras da mancha-de-estenfílio do tomateiro (<i>Stemphylium solani</i> e <i>S. lycopersici</i>) | 56 |
| Resumo..... | 57 |
| Abstract..... | 58 |
| 1. Introdução..... | 59 |
| 2. Material e Métodos..... | 61 |
| 3. Resultados..... | 64 |
| 4. Discussão..... | 67 |
| 5. Referências Bibliográficas..... | 71 |
| ANEXO | 87 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1.1. Isolados de <i>Verticillium dahliae</i> utilizados na seleção definitiva | 47 |
| Tabela 1.2. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado VERT. 94, raça 1, de <i>Verticillium dahliae</i> , na seleção preliminar (“screening”) | 48 |
| Tabela 1.3. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert.02 | 50 |
| Tabela 1.4. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert.12 | 51 |
| Tabela 1.5. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert.63 | 52 |
| Tabela 1.6. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert.93 | 53 |
| Tabela 1.7. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert.94 | 54 |
| Tabela 1.8. Coeficientes de correlação entre período de incubação (PI) e índice de doença (ID) em acessos de tomateiro inoculados com isolados de <i>Verticillium dahliae</i> | 55 |
| Tabela 2.1. Reação de acessos de espécies de tomateiro <i>Solanum</i> (secção <i>Lycopersicon</i>) a um isolado de <i>Stemphylium solani</i> (EH -1740) e um de <i>S. lycopersici</i> (EH -1749) | 78 |
| Tabela 2.2. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado EH-1740 (<i>Stemphylium solani</i>) | 82 |
| Tabela 2.3. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado EH-1749 (<i>Stemphylium lycopersici</i>) | 84 |
| Tabela 2.4. Coeficientes de correlação entre período de incubação (PI), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e índice de doença (ID) em acessos de tomateiro com o isolado EH-1740 (<i>Stemphylium solani</i>) | 86 |
| Tabela 2.5. Coeficientes de correlação entre período de incubação (PI), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e índice de doença (ID) em acessos de tomateiro com o isolado EH-1749 (<i>Stemphylium lycopersici</i>) | 86 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Porcentagem de acessos resistentes e suscetíveis ao isolado Vert. 94 (raça 1) de *Verticillium dahliae* na seleção preliminar (“Screening”) 47

Figura 2.1. Frequência de acessos de *Solanum* spp. (Sec. *Lycopersicon*) resistentes, suscetíveis, intermediários e resistentes a apenas uma espécie de *Stemphylium* (*S. solani* e *S. lycopersici*) 81

RESUMO GERAL

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças mais atacadas por doenças de diversas etiologias, sendo que os fungos causam a maior parte destas doenças. Destacam-se entre estas a murcha-de-verticílio (*Verticillium dahliae*) e a mancha-de-estenfílio (*Stemphylium solani* e *S. lycopersici*). A melhor forma de controle destas doenças é o plantio de cultivares resistentes. Os genes de resistência *Ve* e *Sm* conferem resistência à murcha-de-verticílio e à mancha-de-estenfílio, respectivamente. O surgimento e o estabelecimento da raça 2 de *V. dahliae*, para a qual não existe cultivares de tomateiro resistentes, e a ocorrência de surtos epidêmicos da mancha-de-estenfílio, que sugere a ausência do gene *Sm* em muitas cultivares utilizadas e erros de identificação e de controle do patógeno, têm causado muitos prejuízos aos produtores das principais regiões produtoras da hortaliça no Brasil. Tendo como base os problemas citados, teve-se como objetivo identificar acessos de tomateiro selvagens e domésticos disponíveis no banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças com resistência a *V. dahliae* (capítulo 1) e à *S. solani* e a *S. lycopersici* (capítulo 2). Todos os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação. No capítulo 1, 100 acessos de tomateiro foram testados quanto à resistência a um isolado de *V. dahliae* raça 1, sendo que a inoculação foi feita através do método de imersão de raízes. Os genótipos foram avaliados 30 dias após a inoculação, através de um corte na base do caule para a verificação de escurecimento vascular, atribuindo às plantas uma escala de notas que varia de 1 (plantas sadias) a 5 (plantas mortas). Os acessos que demonstraram resistência foram reavaliados com o mesmo isolado para confirmação de resistência e mais outros quatro, pertencentes às raças 1 e 2 e de diferentes localidades, considerando-se também nessa etapa os parâmetros epidemiológicos período de incubação (PI) e índice de doença (ID). Verificou-se que houve reação diferencial dos genótipos aos isolados de cada raça (resistente à raça 1, suscetível a raça 2 e vice-versa), verificando-se também uma maior frequência de acessos resistentes à raça 1 do patógeno. Alguns genótipos apresentaram resistência do tipo “vertical” a todos os isolados inoculados. A maior parte dos genótipos resistentes pertencia a acessos da espécie *S. lycopersicum*. No capítulo 2, 109 acessos de tomateiro foram testados quanto à resistência a um isolado de *S. solani* e a outro de *S. lycopersici*, através de pulverização da suspensão do inóculo em folíolos de tomate até o escorrimento. Aos 15 dias após a inoculação as plantas eram avaliadas através da visualização de sintomas foliares, sendo que as plantas resistentes apresentaram folhas sadias ou com pequenas pontuações necróticas, caracterizando reação de hipersensibilidade. Os genótipos considerados resistentes foram reavaliados com os mesmos isolados para confirmação da resistência, considerando-se os padrões epidemiológicos PI, área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e ID. A maior parte dos genótipos confirmou a resistência verificada na pré-seleção. Alguns demonstraram suscetibilidade na seleção definitiva, sendo que a “resistência” inicial ocorreu devido a escapes, ou resistência do tipo “horizontal”. Verificou-se resistência aos patógenos em acessos das espécies *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium* (provavelmente portadores do gene *Sm*), *S. habrochaites* e *S. peruvianum* (provavelmente portadores de novos alelos/genes de resistência). Os genótipos resistentes a ambas as doenças podem ser utilizados em programas de melhoramento genético e manejo integrado da doença. Para a confirmação da presença dos alelos/genes de resistência à *V. dahliae* e à *Stemphylium* nas fontes promissoras identificadas, é necessária a caracterização genética, além do teste em condições de campo sob diferentes intensidades das doenças.

ABSTRACT

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the vegetables most affected by diseases of different etiologies, and the fungi cause most of these diseases, as Verticillium wilt (*Verticillium dahliae*) and gray leaf spot (*Stemphylium solani* and *S. lycopersici*). The best way to control these diseases is to use resistant cultivars. The *Ve* and *Sm* genes confer resistance to Verticillium wilt and gray leaf spot, respectively. The emergence and establishment of race 2 of *V. dahliae*, for which there is no resistant cultivars of tomato, and the occurrence of epidemic outbreaks of gray leaf spot, which suggests the absence of *Sm* gene in many cultivars used and errors in identification and control of the pathogen, have caused damage to many producers of the main vegetable producing regions of Brazil. Based on these problems, the main objective was to identify *Solanum* (section *Lycopersicon*) accessions of wild and domestic tomatoes available in the germplasm bank of Embrapa Vegetables with resistance to *V. dahliae* (Chapter 1) and *S. solani* and *S. lycopersici* (Chapter 2). All experiments were conducted in greenhouse. In Chapter 1, 100 accessions of tomato were tested for resistance to an isolate of *V. dahliae* race 1, and the inoculation was made by the root dipping method. Disease assessment was done 30 days after inoculation through a cut in the base of the stem to verify vascular browning, giving the plants a scale of grades ranging from 1 (healthy plant) to 5 (dead plants). A second assessment was done with the same isolate for confirmation of resistance and another four, belonging to races 1 and 2 and in different locations, based upon the epidemiological parameters incubation period (IP) and disease index (DI). Sources of race-specific resistance and also with resistance to both races were identified. The most resistant accessions belonged to *S. lycopersicum*. In Chapter 2, 109 accessions of tomato were tested for resistance to a strain of *S. solani* and the other from *S. lycopersici*, by spraying the suspension of the inoculum on tomato leaves. At 15 days after inoculation the plants were assessed by visualization of leaf symptoms, and the resistant plants had healthy leaves or with small necrotic scores, featuring a hypersensitivity reaction. The genotypes considered resistant were evaluated with the same isolates for confirmation of resistance, considering the epidemiological patterns IP, area under the disease progress curve (AUDPC) and DI. Promising sources of resistance were identified in accessions of *S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. peruvianum* and *S. pimpinellifolium*. The *S. pimpinellifolium* and *S. lycopersicum* accessions probably have the resistance gene *Sm*. However, *S. habrochaites* and *S. peruvianum* might be potential new sources of gene/alleles that confer resistance to both fungi. The resistant genotypes may be useful for tomato breeding programs and integrated management of disease. To confirm the presence of alleles/genes for resistance to *V. dahliae* and *Stemphylium* in these genotypes, a genetic characterization is required in addition to testing in the field under different intensities of disease.

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de hortaliças constitui-se num importante item do agronegócio brasileiro, sendo um dos seus setores mais dinâmicos e com grande potencial de crescimento em produção e produtividade. Entre as olerícolas cultivadas, as solanáceas ocupam a maior área de cultivo, sendo o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.) a segunda olerícola mais importante, cultivada e consumida em todo o mundo (Silva & Giordano, 2000; Filgueira, 2005).

O tomateiro é atacado por doenças de diversas etiologias e muitas destas possuem grande poder destrutivo, o que pode acarretar em grandes prejuízos aos produtores. A maior parte destas doenças são causadas por fungos e pseudofungos, o que leva a procura de fungicidas para o controle de doenças, principalmente da parte aérea das plantas. No entanto, as murchas são de difícil controle e a utilização de certos defensivos para a diminuição das populações de patógenos de solo é economicamente e ambientalmente inviável, fazendo com que o plantio de genótipos resistentes seja a melhor alternativa (Kurozawa & Pavan, 2005; Lopes *et al.*, 2005).

Uma das doenças mais destrutivas ao tomateiro é a murcha provocada pelo fungo *Verticillium dahliae* Kleb., que ocorre em regiões de temperatura amena, especialmente nas regiões sul e sudeste do Brasil. Trata-se de um patógeno altamente polífago e amplamente distribuído pelo mundo. Os seus sintomas mais comuns são a murcha nas horas mais quentes do dia, amarelecimento e necroses foliares e escurecimento vascular leve, além da redução de crescimento. O controle genético se dá pelo plantio de cultivares que possuem o gene *Ve*, que confere resistência à raça 1. Entretanto, a prevalência de uma raça mais virulenta (raça 2) tem

causado grandes prejuízos nas principais regiões produtoras de tomate do país (Reis & Boiteux, 2006a).

A mancha-foliar provocada por espécies de fungos do gênero *Stemphylium* (*S. solani* Weber e *S. lycopersici* (Enjoji) Yamam.) tinha se tornado uma doença de importância secundária devido ao plantio de cultivares resistentes e de aplicações periódicas de fungicidas recomendados para o controle de doenças da parte aérea do tomateiro. Os sintomas são manchas pequenas de coloração marrom-escuro e de formato irregular, podendo coalescer e sua parte central se desprender do tecido da folha, dando uma aparência de rasgado. O surgimento de surtos epidêmicos da doença indica que os híbridos mais recentes de tomateiro não possuem o gene *Sm*, que confere resistência ao patógeno (Reis & Boiteux, 2006b).

O tomateiro possui doenças que são comuns a outras solanáceas. Dentre as doenças comuns, destacam-se a murcha-de-verticílio e a mancha-de-estenfílio. Estas duas doenças, sob condições favoráveis e em cultivares suscetíveis, podem ser destrutivas às olerícolas desta família. O fato de estas doenças serem comuns à culturas tem importância epidemiológica e consequências para o manejo das mesmas. Por esse motivo, estas não devem ser plantadas concomitantemente em áreas próximas ou em sucessão, pois uma pode servir de fonte de inóculo para a outra (Reis & Boiteux, 2006c e d).

Recentemente, a ocorrência de epidemias severas de mancha-de-estenfílio e de grandes prejuízos provocados por *V. dahliae* raça 2 em tomateiro chamou a atenção para a necessidade do desenvolvimento de novas variedades e da busca de acessos que apresentem elevada resistência a estes patógenos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivos avaliar

novas fontes de resistência de tomateiro aos fungos *Verticillium dahliae* raça 2 e *Stemphylium* (*S. solani* e *S. lycopersici*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FILGUEIRA, F.A.R. Solanáceas II. Tomate: a hortaliça cosmopolita. In: Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna para a produção de hortaliças. 2ª edição revista e ampliada. Viçosa: Ed. UFV. p. 193-238. 2005.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M.A., 1998. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. Manual de Fitopatologia vol II: Doenças de plantas cultivadas. p.690-719. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 607-626. 2005.

LOPES, C.A., REIS, A. & BOITEUX, L.S. Doenças fúngicas. In: ÁVILA, A. C & LOPES, C. A. Doenças do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. 2005.

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Murcha-de-Verticillium: um sério problema para o cultivo de hortaliças no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular técnica 40. 11p. 2006a.

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

REIS, A. & BOITEUX, L.S. Círculo de hospedeiras de isolados de *Stemphylium solani*.

Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 18. 13p. 2006c.

REIS, A. & BOITEUX, L.S. Círculo de hospedeiras de isolados de *Verticillium dahliae*

obtidos de tomateiro, quiabeiro e morangueiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de

Pesquisa e Desenvolvimento 21. 16p. 2006d.

REVISÃO DE LITERATURA

1) O tomateiro

Hortaliças da família das solanáceas estão entre as mais cultivadas no mundo, com destaque para a produção de tomate (*Solanum lycopersicon* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.), sendo o Brasil um dos maiores produtores mundiais, alcançando uma das maiores produtividades dessa olerícola (FAO – ONU, 2006; Silva & Giordano, 2000). De sua família, fazem parte também a batata (*S. tuberosum*), berinjela (*S. melongena*), jiló (*S. gilo*), pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.), o fumo (*Nicotiana tabacum*), além de várias espécies selvagens e invasoras (Van Balken, 2008). O tomateiro é originário da América Central e do Sul, era amplamente cultivado e consumido pelos povos pré-colombianos (Silva & Giordano, 2000).

A maioria dos botânicos atribui a origem do cultivo e consumo do tomate como alimento à civilização Inca, que compreendia regiões de países andinos como o Chile, Colômbia, Equador, Bolívia e Peru (Heuvelink, 2005), pois nestas localidades podem ser encontradas uma grande variedade de tomates selvagens e algumas domésticas de frutos verdes (Peralta *et al.*, 2005). A planta foi introduzida na região onde hoje fica o México, onde recebeu o nome “tomatle” (do náuatle “fruto chato”) e depois entrou na Europa no século XVI, onde foi considerada uma planta tóxica. Em 1554, já havia sido introduzido na Itália um cultivar com frutos amarelados, que deu origem ao nome “pomodoro”, em italiano “maçã-de-ouro”. No Brasil, o consumo e o cultivo do tomate foram difundidos pelos imigrantes italianos e japoneses (Silva & Giordano, 2000).

De acordo com Filgueira (2005), o tomateiro é uma planta herbácea, com sistema radicular pivotante (plantio por sementes) ou fasciculada (transplântio), de caule flexível, flores agrupadas em cachos e hermafroditas. Os frutos são bagas carnosas, suculentas com aspecto, tamanho e peso variados, conforme a cultivar, e de coloração vermelha, quando maduros. As sementes são pilosas, pequenas e envoltas por mucilagem, quando no fruto. A planta apresenta dois hábitos de crescimento, que condicionam o tipo de cultivo: o hábito indeterminado, onde ocorre predominância da gema apical sobre as gemas laterais; e o hábito determinado, onde há crescimento vegetativo menos vigoroso e a planta assume a forma de uma moita.

O tomateiro comum, *S. lycopersicum*, é uma planta diplóide ($2n= 24$) e tipicamente autógama. Atualmente são reconhecidas nove espécies de *Solanum* (seção *Lycopersicon*). Oito espécies são selvagens (Peralta *et al.*, 2005). As espécies selvagens *S. pimpinellifolium*, *S. habrochaites* (*L. hirsutum*) e *S. peruvianum* são as de maior interesse para os melhoristas, pois possuem genes de resistência a vários patógenos (Maluf, 1985).

A produção anual brasileira de tomate é estimada em três milhões de toneladas, sendo dois terços destinados ao mercado *in natura* (tomate de mesa ou estaqueado) e o restante ao processamento industrial da polpa (tomate rasteiro) e esta olerícola está entre as de maior importância industrial no país como geradora de empregos tanto na área urbana como na rural (FEAGRI/UNICAMP, 2006). Verificou-se um notável aumento da produtividade do tomate industrial (120%), no período entre 1990 e 2007, devido à maior concentração de produção em novas fronteiras agrícolas, como o cerrado, de condições edafoclimáticas favoráveis ao desenvolvimento de híbridos de alto potencial produtivo (Melo & Vilela, 2005). No ano de 2007, o Brasil produziu cerca de 3,4 milhões de toneladas da hortaliça, com uma

produtividade de 58,75 t/ha, com previsões das safras de 2008 e 2009 de produção de 3,95 e 3,64 milhões de toneladas, respectivamente (Sidra/ IBGE, 2009).

O tomateiro é atacado por doenças de diversas etiologias que podem ser muito problemáticas à cultura, sendo algumas delas de difícil controle, gerando despesas elevadas ao produtor devido à compra de defensivos químicos. Felizmente, nem todas elas podem ocorrer ao mesmo tempo, ficando normalmente restritas a um pequeno conjunto que varia na dependência de uma combinação de fatores. Destacam-se, entre estas doenças, a murcha causada pelo fungo *Verticillium dahliae* e a mancha-foliar de *Stemphylium* (Lopes *et al.*, 2003; Lopes *et al.*, 2007).

2) Doenças do tomateiro

a) Murcha de *Verticillium dahliae*

a.1) A doença e o patógeno

A murcha provocada pelo fungo *V. dahliae* é uma das doenças mais sérias das solanáceas. A severidade dos sintomas e a redução da produtividade variam muito com o local e época do ano. Este é um patógeno polífago que parasita cerca de 200 espécies de plantas, tanto cultivadas como silvestres (Agrios, 2005, Reis & Boiteux, 2006 a e b). O fungo pode sobreviver por longos anos no solo em forma de microescleródios (pequenos segmentos de clamidósporos). Sendo assim, a doença pode ocorrer com frequência e provocar prejuízos, principalmente em locais onde já foram cultivadas solanáceas, fabáceas, malváceas e plantas

de outras famílias, dificultando assim a rotação de culturas (Kurozawa & Pavan, 2005; Lopes *et al.*, 2005).

O gênero *Verticillium* (subdivisão Deuteromycotina, classe Hyphomycetes, ordem Moniliales e família Moniliaceae) foi estabelecido por Nees von Esenbeck em 1916, baseado na morfologia do conidióforo. Os conidióforos são eretos, septados e ramificados, com ramificações verticiladas e pontiagudas nas extremidades. Os conídios são formados terminalmente de forma isolada ou formando pequenas cabeças úmidas. Estes são unicelulares, ovóides a elipsóides ou esféricos e hialinos a marrom-alaranjados (Watanabe, 1994).

A literatura relata duas espécies fúngicas como causadoras da murcha-de-verticílio em tomateiro e em outras hortaliças, *V. albo-atrum* e *V. dahliae*. Há muita controvérsias quanto à identificação de cada espécie, uma vez que *V. albo-atrum* e *V. dahliae* são morfologicamente muito semelhantes. Por muitos anos os isolados de *V. dahliae* foram considerados como sendo uma estirpe de *V. albo-atrum* capaz de formar microescleródios (Reis & Boiteux, 2006a). Estudos recentes, feitos por Reis *et al.* (2007), indicaram a existência exclusiva de *V. dahliae* causando murcha em hortaliças no Brasil.

a.2) Hospedeiros

O gênero *Verticillium* possui uma ampla gama de hospedeiros entre as plantas, tanto cultivadas como silvestres, incluindo também espécies parasitas de cogumelos, insetos e nematóides (Melouk, 1992). O gênero inclui parasitas vasculares e não-vasculares que causam doenças de importância econômica, particularmente em regiões de clima ameno, como nas

Regiões Sul e Sudeste do Brasil, sendo relatado também em áreas de maiores altitudes nas Regiões Nordeste e Centro-oeste, não sendo encontrado ainda na região Norte do Brasil (Reis & Boiteux, 2006a).

Entre as espécies hospedeiras dos fungos *V. dahliae* e *V. albo-atrum* estão o amendoim (*Arachis hypogaea*), algodão (*Gossypium hirsutum*), batata (*Solanum tuberosum*), tomate (*S. lycopersicon* = *L. esculentum*), hortelã (*Mentha* sp.), melão (*Cucumis melo*), quiabo (*Abelmoschus esculentus*), pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.), alfafa (*Mendicago sativa*), cebola (*Allium cepa*), abacate (*Persea americana*), berinjela (*S. melongena*), jiló (*S. gilo*), manga (*Mangifera indica*), morango (*Fragaria x ananassa*), pepino (*C. sativus*), entre outras hortaliças, fruteiras e plantas ornamentais. Muitas das espécies relatadas acima ainda não foram encontradas como hospedeiras do patógeno no Brasil (Reis & Boiteux, 2006b).

a.3) Sintomas e epidemiologia

A espécie *V. dahliae* provoca murcha em regiões de clima ameno, além dos sintomas aparecerem mais tardiamente e comumente na parte inferior da planta ou em alguns ramos. Em algumas hospedeiras, o fungo incide primariamente em plântulas, que geralmente morrem após a infecção. Mais comuns são os sintomas tardios, caracterizada por murcha na planta, clorose e manchas necróticas em forma de “V” com o vértice voltado para a nervura central das folhas mais velhas (baixeiras) das plantas infectadas, além de enraizamento adventício na região logo acima do colo. Verifica-se, através de corte longitudinal do colo das plantas infectadas, escurecimento vascular (xilema) de coloração menos intensa se comparada com aquelas causadas por *Fusarium*. Pode ocorrer também diminuição do crescimento da planta e

redução do tamanho dos frutos, acarretando em prejuízos à produção (Agrios, 2005; Kurozawa & Pavan, 2005).

A murcha de *V. dahliae* é uma doença monocíclica, ou seja, onde o inóculo inicial tem grande importância no desenvolvimento da doença. Já *V. albo-atrum* pode causar doenças policíclicas, pois pode produzir conidióforos e conídios na parte aérea e contribuir para a propagação da doença (Fradin & Thomma, 2005). Isolados de *V. dahliae* de diferentes hospedeiros são capazes de causar sintomas em espécies de diversas famílias (Laureano *et al.*, 2006). Entretanto, alguns isolados do fungo são mais especializados e causam sintomas em um número limitado de hospedeiros (Bhat & Subbarao, 1999). Níveis diferentes de agressividade de isolados de *V. dahliae* podem ser observados através de inoculação cruzada [Tsrer (Lahkim) *et al.*, 1998].

O fungo penetra em raízes jovens das plantas hospedeiras diretamente ou através de ferimentos. O fungo é disseminado através de semente contaminada, por propágulos vegetativos, ventos, água e pelo solo, que pode conter 100 ou mais microescleródios por grama. A quantidade de 6-50 microescleródios por grama é suficiente para provocar infecção na maioria das culturas suscetíveis. O cultivo de solanáceas pode provocar o aumento do nível de inóculo no solo. *V. dahliae* pode ser também encontrado em áreas não-cultivadas, indicando que este fungo é nativo do solo e que pode atacar culturas suscetíveis assim que são implantadas (Agrios, 2005). A doença pode ocorrer também em cultivos de tomateiro em ambiente protegido (Lopes & Reis, 2007).

A doença é mais importante nas condições de temperatura de 22 °C a 25 °C e em solos levemente ácidos e neutros. Os danos causados à cultura dependem da uniformidade da distribuição do fungo no solo e da concentração do inóculo. O ótimo da umidade para a planta

favorece também o desenvolvimento da doença, pois o fungo penetra pelas raízes. Após a penetração, o patógeno coloniza os vasos lenhosos de forma ascendente. A velocidade no processo pode ser influenciada pelo nível de resistência genética, virulência do isolado, estado nutricional da planta e temperatura ambiente (Kurozawa & Pavan, 2005). A ocorrência de outros patógenos pode agravar a ocorrência e a severidade da murcha (Fradin & Thomma, 2005).

O primeiro relato da doença no Brasil foi na década de 1940 (refer...). Em 1983, foi relatado uma nova raça mais virulenta, estando presentes no país duas raças fisiológicas do patógeno (raças 1 e 2). Não se encontram no mercado híbridos resistentes à raça 2, que é mais virulenta. No entanto, variedades de tomate, como a Santa Clara, que aparentemente são resistentes à raça 1, também são afetadas pela doença (Reis & Boiteux, 2006b). A identificação de raças pode ser feita através de variedades diferenciais de tomateiro: a cultivar Ponderosa é suscetível a isolados da raça 1 e a cv. Floradade, resistente. Entretanto, isolados da raça 2 são virulentos a ambas as cultivares (Santos, 1997). Estudos de Reis & Boiteux (2008) indicaram que isolados pertencentes à raça 1 eram predominantes até a década de 1990, enquanto que, mais recentemente, isolados da raça 2 passaram a predominar, provavelmente devido à utilização maciça de cultivares com o gene *Ve*, que confere resistência à raça 1 do patógeno.

a.4) Controle

A melhor medida de controle para a murcha-de-verticílio é o plantio de cultivares resistentes à doença. O controle pode também ser feito através da rotação de culturas, embora nem sempre com êxito, pois a ampla gama de hospedeiros do fungo pode gerar dificuldades

na escolha da cultura a ser implantada, além da sobrevivência do patógeno por longos períodos no solo. Outras formas de controle são: a eliminação de plantas daninhas e plantas voluntárias dentro e/ou próximas aos locais de cultivo; eliminar lavouras velhas de tomate e de outras hortaliças antes do início de um novo cultivo; certificar-se de que as mudas para plantio estejam em bom estado fitossanitário; controle da quantidade e o movimento da água na irrigação e fazer rotação de culturas com gramíneas (Lopes *et al*, 2005). O controle térmico, através da solarização do solo é útil para o controle das doenças em regiões quentes e úmidas, além do uso de plástico preto (“mulch”) combinado com adubação nitrogenada por amônio, que pode reduzir os danos provocados pela doença em algumas hospedeiras, como a berinjela (Agris, 2005). Em algumas regiões produtoras do país e do mundo, produtores têm utilizado mudas enxertadas de solanáceas e cucurbitáceas, cujos porta-enxertos apresentam resistência a patógenos de solo (Peil, 2003).

b) Mancha-foliar de *Stemphylium*

b.1) A doença e o patógeno

A mancha-de-estenfílio é uma doença que pode ocorrer em praticamente todas as regiões onde se cultiva o tomateiro, afetando a cultura em diferentes estádios de desenvolvimento (Kurozawa & Pavan, 1997; Lopes *et al.*, 2005). Os sintomas podem ser observados nos cotilédones de plântulas ainda na fase de sementeira, assim como durante os demais estádios de desenvolvimento da cultura, sendo mais intensos no início da colheita (Azevedo, 2003).

A doença é causada pelos fungos *Stemphylium solani* Weber e *S. lycopersici* (Enjoji) Yamamoto. Os patógenos sobrevivem em restos de cultura no solo ou em plantas que crescem em campos ou viveiros abandonados. Pode haver disseminação por mudas doentes ou insetos, mas o vento é o principal meio de disseminação. Os esporos germinam facilmente na presença de água e em temperatura elevada, produzindo intenso crescimento durante uma única noite. O fungo se desenvolve rapidamente na planta e após dois a três dias os sintomas surgem de forma visível.

Embora sua importância tenha sido limitada nos últimos anos devido ao uso de cultivares resistentes e às aplicações periódicas de fungicidas para controle do complexo de doenças foliares (Azevedo, 2003; Kurozawa & Pavan, 2005; Lopes *et al.*, 2005), verificou-se recentemente epidemias severas do patógeno nas principais regiões produtoras de tomate do Brasil.

O ressurgimento dessa doença no Brasil sugere a falta de interesse das empresas produtoras de sementes em inserir o gene *Sm*, que confere resistência ao patógeno, nas novas cultivares de tomateiro disponíveis no mercado. Têm-se observado respostas de suscetibilidade em híbridos comerciais, muito afetados pela doença nos diversos campos de cultivo. Reis & Boiteux (2006c), ao fazerem um levantamento incluindo 50 cultivares de tomate constante nos catálogos das diversas empresas de sementes atuando no Brasil, observaram que apenas 16 (32%) delas eram identificadas como resistentes à doença.

Chama a atenção o fato de que a maioria das cultivares de tomate do tipo “longa-vida” é suscetível à doença. Muitos desses híbridos são líderes de mercado e ocupam grandes áreas de plantio em diferentes regiões produtoras do país. A identificação incorreta do agente etiológico, que pode ser confundido com manchas de etiologia bacteriana, o desconhecimento

da importância da doença por parte dos agricultores e o uso incorreto de fungicidas para o complexo de doenças foliares são outros fatores que podem ter contribuído para o ressurgimento da doença (Reis & Boiteux, 2006c).

As características do gênero são as seguintes: os conídios são muriformes e de coloração pálida a castanho, ovais, oblongos, elipsoidais ou subsféricos, subangulares, solitários, terminais, frequentemente com constrição na porção mediana do conídio onde está o principal septo transversal, de superfície lisa ou verrugosa. Os conídios não têm bicos e são produzidos em conidióforos percorrentes, ou seja, que crescem através do próprio ápice (que o difere dos gêneros *Ulocladium* e *Alternaria*). A extremidade do conidióforo é, em geral, dilatada. As colônias crescem rápido em meio de cultura e o micélio é de coloração marrom a oliváceo-escuro ou de acinzentado a flocado (Mycology On-Line, 2008; Watanabe, 1994). As duas espécies são diferenciadas através das variações morfológicas dos conídios, sendo que *S. solani* possui conídios com maiores comprimentos que *S. lycopersici* (Ellis, 1971).

b.2) Hospedeiros

No Brasil, a espécie *S. solani* parece ser a mais comum, e sua predominância em relação a *S. lycopersici* em lavouras de tomate, deve-se, provavelmente, ao fato de ser mais polífaga, ou seja, ser capaz de infectar um maior número de espécies hospedeiras. Embora *S. solani* seja relatado no Brasil como patógeno de várias plantas cultivadas, silvestres ou invasoras pertencentes a diversas famílias botânicas (Mendes *et al.*, 1998), a maioria das espécies hospedeiras de *S. solani* pertence à família Solanaceae, entre elas, o tomate, o jiló (*Solanum jillo*), o pimentão (*Capsicum annuum* L.), as pimentas (*Capsicum* spp.), a berinjela

(*Solanum melongena*) a lobeira (*S. lycocarpon*) e de outras famílias botânicas, como o algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) (Mehta & Arias, 2001) e o manjeriço (*Ocimum basilicum*) (Reis & Boiteux, 2006c). Recentemente, Reis & Boiteux (2006e) relataram *C. chinense* (pimenta ‘Biquinho’), *Nicandra physaloides* (falso-joá-de-capote), *Solanum palinacanthum* (joá-bravo), *Cyphomandra betacea* (= *Solanum betacea*) (tomate-de-árvore) e um acesso de *S. paniculatum* (jurubeba) como novas hospedeiras de *S. solani*. Por outro lado, *S. lycopersici* tem uma gama de hospedeira mais restrita, como o próprio tomateiro, sálvia (*Salvia officinallis*), crisântemo (*Chrysanthemum eucanthemum*), cravo (*Dianthus* sp.) e o mamão (*Carica papaya*) (Mendes *et al.*, 1998).

b.3) Sintomas e epidemiologia

Os sintomas da mancha-de-estenfílio ocorrem quase que exclusivamente nas folhas. A doença pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento, desde a sementeira e mudas pré-plantadas (Kurozawa & Pavan, 2005). Entretanto, os sintomas ocorrem com mais frequência nas folhas mais novas, principalmente nas fases de florescimento e frutificação da planta (Azevedo, 2003). O sintoma mais comum da doença é a formação de lesões foliares pequenas, marrom-escuras, de formato irregular. Ao contrário da pinta-preta, que é mais evidente nas folhas mais velhas, a mancha-de-estenfílio afeta principalmente as folhas novas de plantas adultas (Kurozawa & Pavan, 2005; Lopes *et al.*, 2005). O fungo penetra o tecido foliar do hospedeiro predominantemente via estômatos (Bentes & Matsuoka, 2005).

Inicialmente as lesões são pequenas, encharcadas e visíveis na parte de baixo das folhas podendo ser confundidas com as manchas provocadas por outras doenças, tais como a

pinta-preta, mancha alvo (*Corynespora cassiicola*), pinta-bacteriana (*Pseudomonas* spp.) e mancha-bacteriana (*Xanthomonas* spp.) (Reis & Boiteux, 2006c). À medida que as manchas crescem, podem coalescer e a sua parte central se desprender do restante do tecido foliar, conferindo um aspecto rasgado ou furado na lesão. Os frutos não são atacados pela doença, mas sob condições favoráveis, podem aparecer pequenas manchas nos tecidos mais jovens do caule e nos pedúnculos das flores e dos frutos. Além disso, as folhas atacadas podem amarelecer, necrosar e desprender da planta (Jones, 1991; Lopes *et al.*, 2005).

Stemphylium lycopersici e *S. solani* podem sobreviver, de um ano para outro, em restos de cultura, em plantas voluntárias ou associadas a outras hospedeiras, inclusive plantas daninhas. A disseminação dos patógenos se dá principalmente por meio de esporos (conídios) conduzidos pelo vento. Mudas contaminadas também podem ser importantes disseminadores destes fungos. Temperaturas na faixa de 24-27^oC e alta umidade do ar favorecem a ocorrência de epidemias da doença (Jones, 1991). No entanto, *S. solani* pode ocorrer em faixa mais ampla de temperatura, tal como acontece em regiões do altiplano andino (Cedeno & Carrero, 1997).

b.4) Controle

A melhor medida de controle para a mancha-de-estenfílio é o plantio de variedades resistentes à doença. Quando isso não for possível, outras medidas podem ser adotadas, como a aplicação preventiva de fungicidas registrados, fazer rotação de culturas com não-hospedeiras do patógeno, evitar plantios próximos a lavouras de tomate e outras hospedeiras, eliminar restos de cultura e plantas daninhas próximas ao plantio de tomate, evitar irrigações

muito freqüentes (principalmente se for por aspersão) e utilizar mudas saudáveis, produzidas em telado e adquiridas de viveiros idôneos (Lopes *et al.*, 2005).

3) Resistência genética a *Verticillium dahliae* e a *Stemphylium* em tomateiro

A obtenção de uma variedade ou cultivar de qualquer espécie vegetal é uma tarefa de grande complexidade e estratégias de melhoramento devem ser traçadas para se obter um material que seja resistente a pragas e doenças. Para a obtenção do material que apresente tais características, é necessário que se identifiquem fontes de resistência e que posteriormente serão incorporadas no cultivar de interesse. Outra etapa indispensável é fazer com que essa resistência seja durável, através da associação com outros métodos de controle (manejo integrado). Na identificação de fontes de resistência, pode-se utilizar métodos de inoculações artificiais em condições controladas, ou realizando experimentos em áreas que apresentem longo histórico de infecção, avaliando-se a resistência de diversos genótipos com base na incidência e/ou severidade da doença no campo, comparando-se com o comportamento de cultivares suscetíveis (Lima *et al.*, 2005).

A busca por genótipos resistentes deve ser feita primeiramente em acessos cultivados, pois estes tiveram características indesejáveis eliminadas através de melhoramento. Não se encontrando as características desejadas nas cultivares comerciais, deve-se recorrer a espécies selvagens. Várias espécies selvagens de *Solanum* (seção *Lycopersicon*) têm fornecido genes de resistência a patógenos de tomateiro. A espécie *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* forneceu o gene *Ve*, que confere resistência à raça 1 de *V. dahliae*. Já *S. pimpinellifolium* pode conter o gene *Sm*, que confere resistência à *S. solani* e *S. lycopersici* (Arie *et al.*, 2007).

Uma das melhores alternativas de controle de doenças é a resistência varietal. Em tomateiro, a partir de uma linhagem selvagem de tomateiro proveniente do Peru, foi introduzido o gene *Ve*, de herança simples, responsável por conferir resistência a *V. dahliae* em cultivares americanas de tomate para indústria (Cerezine *et al.*, 1991). Entretanto, a ocorrência de uma nova raça do patógeno (raça 2) tem ocasionado grandes prejuízos nas principais regiões produtoras de tomate do país, uma vez que as variedades antes consideradas resistentes ao patógeno tem sofrido ataques severos. A resistência a raças mais agressivas do patógeno é de herança mais complexa, sendo a resistência tanto quantitativa quanto isolado-específica (Santos, 1997). Isolados brasileiros do patógeno demonstraram alta virulência em genótipos antes considerados resistentes, sendo necessária a utilização de diversos isolados de origens distintas, para que estratégias de melhoramento genético visando resistência estável a *V. dahliae* sejam melhor traçadas para as diversas regiões produtoras (Baergen *et al.*, 1993; Santos, 1997). A inexistência de cultivares que apresentem elevados níveis de resistência à raça 2 de *V. dahliae* e a outros patógenos de solo tem motivado empresas de pesquisa agropecuária a buscarem novas fontes de resistência ao patógeno (Reis & Boiteux, 2006a).

Em relação à mancha-de-estenfilio, o gene *Sm* controla a resistência às espécies do gênero que incidem sobre o tomateiro. Recentemente, observou-se surtos epidêmicos da doença nas principais regiões produtoras de tomate do Brasil, devido à falta de cuidado das empresas de sementes em inserir o gene *Sm* em cultivares de tomateiro longa-vida, atualmente as mais plantadas no país (Reis & Boiteux, 2006c). Paula & Oliveira (2001) identificaram genótipos comerciais altamente promissores que podem ser utilizados para futuros programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. Plant Pathology 5^a ed. Burlington: Elsevier. 2005.

ARIE, T.; TAKAHASHI, H.; KODAMA, M. & TERAOKA, T. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology* 24: 135–147. 2007.

AZEVEDO, L.A.S. Danos ocasionados por fungos e as estratégias de controle. FEAGRI/UNICAMP. Disponível em www.feagri.unicamp.br/tomates/pdfs/danfungos.pdf. Acesso em maio de 2008.

BAERGEN, K.D.,; J.D. HEWITT, D.A. & ST.CLAIR. Resistance of tomato genotypes to four isolates of *Verticillium dahliae* race 2. *HortScience* 28: 833-836. 1993.

BHAT, R. G. & SUBBARAO, K. V. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 89:1218-1225. 1999.

BENTES, J. L. S. & MATSUOKA, K. Histologia da interação *Stemphylium solani* e tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 30:224 - 231. 2005.

CAMPO NEWS. Disponível em <http://www.camponews.com.br/noticia.asp?codigo=2154>. Acesso em janeiro de 2009.

CEDENO, L. & CARRERO, C. First report oftomato gray leaf spot caused by *Stemphylium solani* in the Andes region of Venezuela. *Plant Disease* 81: 1332.1997.

CEREZINE, P. C.; KUROZAWA, C. & MISCHAN, M. M. Murcha de *Verticillium* em tomateiro: 1. Influência do potencial de inoculo de *Verticillium dahliae* no comportamento de variedades de tomateiro Ângela Hiper e Marmade VR. Pesquisa Agropecuária Brasileira 26: 2043-2054. 1991.

ELLIS, M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew, Commonwealth Mycological Institute. 1971.

FAO – ONU. Disponível em www.fao.org. Acesso em outubro de 2007.

FILGUEIRA, F. A. R. Solanáceas II. Tomate: a hortaliça cosmopolita. In: Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna para a produção de hortaliças. 2ª edição revista e ampliada. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. p. 193-238. 2005.

FRADIN, E. F. & THOMMA, B. P. H. J. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. Molecular Plant Pathology 7(2): 71–86. 2006.

JONES, J.B.; JONES, J.P.; STALL, R.E. & ZITTER, T.A. Compendium of Tomato Diseases. St. Paul: APS Press. 73p. 1991.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L. E. A. & REZENDE, J. A. M. Manual de Fitopatologia vol II: Doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 607-626. 2005.

LAUREANO, I.B.; MIRANDA, B.E.C.; BOITEUX, L. S. & REIS, A. Círculo de plantas hospedeiras de isolados do fungo *Verticillium dahliae*. In: XLII CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. Goiânia. Horticultura Brasileira (suplemento) 24: 161-164. 2006.

LIMA, G.S.A; ASSUNÇÃO, I. P. & VALLE, L. A. C. Controle Genético de Doenças Radiculares. In: MICHERREF, S. J. ; ANDRADE, D. E. G. T. & MENEZES, M. (Editores). Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais. Recife: UFRPE. p.247-278. 2005.

LOPES, C. A. & REIS, A. Doenças do tomateiro cultivado em ambiente protegido. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular técnica 53. 2007.

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

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

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

MELO, P. C. T. & VILELA, N. J. Desafios para a cadeia brasileira do tomate para o processamento industrial. *Horticultura Brasileira* 23: 154-157. 2005.

MELOUK, H. A. *Verticillium* In.: SINGLETON, I. L.; MIHAIL, J. D. & RUSH, C. M. *Methods for research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. St. Paul: APS Press. 1992.

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

MYCOLOGY ON-LINE. Disponível em www.mycologyonline.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions. Acesso em setembro de 2008.

MIZUBUTI, E. S. G. & MAFFIA, L. A. S. *Introdução à Fitopatologia*. Caderno Didático 115. Viçosa: Ed. UFV. 190 p. 2006.

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

PEIL, R. M. A enxertia na produção de mudas de hortaliças. *Ciência Rural* 33: 1169-1177. 2003.

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

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Murcha-de-Verticillium: um sério problema para o cultivo de hortaliças no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular técnica 40. 11p. 2006a.

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Círculo de hospedeiras de isolados de *Verticillium dahliae* obtidos de tomateiro, quiabeiro e morangueiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 21. 16p. 2006b.

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

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

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

REIS, A & BOITEUX, L. S. Caracterização de raças de *Verticillium* de isolados obtidos de diferentes hospedeiras e Estados do Brasil. Tropical Plant Pathology, v. 33 (suplemento). 2008.

REIS, A.; BOITEUX, L. S. & COSTA, H. Determinação de espécies e de raças de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes Estados do Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças, Boletim de pesquisa e desenvolvimento 31. 13p. 2007.

SANTOS, J. R. M. Methodology for screening tomato for *Fusarium* Wilt, *Verticillium* Wilt, Gray Leaf Spot, Early Blight and Septoria Leaf Blight. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES, 1.. 1996, Recife. Proceedings. Alexandria: ASHS: IPA. p. 164- 166. 1997.

SIDRA/IBGE. Sistema de dados agregados. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=5&z=t&o=11&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>. Acesso em 20/03/2009.

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

TSROR (LAHKIM), L.; ERLICH, O.; AMITAI, S. & HAZANOVSKY, M. 1998. *Verticillium* wilt of paprika caused by a highly virulent isolate of *Verticillium dahliae*. Plant Dis. 82:437-439. 1998.

VAN BALKEN, J. A. M. The plant family of the Solanaceae: a comprehensive overview. Disponível em www.hvanbalken.com. Acesso em outubro de 2008.

WATANABE, T. Pictorial atlas of soil and seed fungi. St. Paul: CRC Press 1994.

CAPÍTULO 1

**Busca de acessos de tomateiro [*Solanum* (secção *Lycopersicon*)] resistentes a *Verticillium*
dahliae raças 1 e 2**

RESUMO

A murcha-de-verticílio, causada pelo fungo *Verticillium dahliae*, é uma das doenças mais destrutivas da cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.). A melhor forma de controle da doença é a utilização de cultivares resistentes aliada com práticas culturais. Entretanto, a utilização maciça de materiais comerciais com o gene *Ve* (que confere resistência a isolados da raça 1 do patógeno) exerceu forte pressão de seleção em favor de uma nova raça capaz de infectar cultivares com este gene. Esta raça 2 tem causado danos econômicos nas principais regiões produtoras de tomateiro uma vez que ainda não existem cultivares comerciais resistentes no Brasil. Neste contexto, torna-se importante a identificação de novas fontes de resistência, que sejam efetivas contra as duas raças de *V. dahliae*. O objetivo deste trabalho foi de identificar novos acessos de *Solanum* (secção *Lycopersicon*) que apresentem resistência a isolados de *V. dahliae* raças 1 e 2. Cem acessos de tomates cultivados e selvagens da coleção de germoplasma da Embrapa Hortaliças foram semeados em bandejas de poliestireno de 128 células contendo substrato para hortaliças e mantidos em casa de vegetação durante 15 dias. Estas plantas foram inicialmente inoculadas com um isolado de *V. dahliae* raça 1 (5 mL de uma suspensão de 10^6 conídios/mL) pelo método de imersão de raízes ('root dipping') e transplantadas para vasos de 1,5L contendo solo esterilizado. A avaliação foi feita aos 30 dias após a inoculação, usando uma escala de notas variando de 1 (planta sadia) a 5 (planta morta). Um grupo de acessos classificados como resistentes (40%) foi re-avaliado para resistência a outros quatro isolados de *V. dahliae* raças 1 e 2, baseado nos parâmetros epidemiológicos período de incubação (PI) e índice de doença (ID), baseado nos valores da severidade final. Foram identificados acessos com resistência raça-específica e também com resistência a ambas as raças. A maioria dos acessos resistentes foi classificada dentro da espécie *S. lycopersicum*, podendo ser indicados para futuros programas de melhoramento genético visando resistência a doença.

Palavras – chave: *Solanum lycopersicum*, *Verticillium dahliae*, resistência

ABSTRACT

Search for tomato [*Solanum* (section *Lycopersicon*)] accessions with resistance to two races of *Verticillium dahliae*.

Verticillium wilt, caused by *Verticillium dahliae*, is one of the most destructive diseases of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). The control of this disease is based upon the use of resistant cultivars combined with cultural practices. However, the large-scale employment of cultivars with the *Ve* gene (controlling resistance to race 1) imposed a strong selection pressure that favored the emergence of a new race (race 2). The *Verticillium dahliae* race 2 isolates have been responsible for heavy yield losses across the major tomato-producing regions of Brazil. So far, there are no tomato cultivars with resistance to *V. dahliae* race 2 in Brazil. Therefore, it is important to identify new sources of resistance effective to both pathogen races. The main objective of the present study was to identify *Solanum* (section *Lycopersicon*) accessions combining resistance to both *V. dahliae* races 1 and 2. A hundred accessions of cultivated and wild tomatoes from the germoplasm collection of Embrapa Hortaliças were first inoculated with *V. dahliae* race 1 isolate (5 mL; 10^6 conidia/mL) by the root dipping method. Inoculated seedlings were transplanted to 1.5 L pots containing sterilized soil. Disease assessment was done 30 days after inoculation using a disease severity index ranging from 1 (healthy plant) to 5 (dead plant). A subgroup of resistant accessions (40%) was reevaluated when challenged with four isolates of *V. dahliae* races 1 and 2, based upon the epidemiological parameters incubation period (IP) and disease index (DI). Sources of race-specific resistance and also with resistance to both races were identified. The most resistant accessions belonged to *S. lycopersicum* and they may be useful for breeding purposes.

Key words: *Solanum lycopersicum*, *Verticillium dahliae*, resistance

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das principais hortaliças do mundo em termos de área de plantio e consumo, sendo também uma cultura de grande importância sócio-econômica (Filgueira, 2005). O Brasil é um dos principais produtores mundiais dessa olerícola, ocupando atualmente a sexta colocação (Agrianual, 2008; FAO – ONU, 2005). Os fungos são responsáveis por mais de 70% das doenças do tomateiro e uma das mais destrutivas é a murcha-de-verticílio, causada pelo fungo *Verticillium dahliae* Klebahn. É uma enfermidade importante tanto no tomate para consumo *in natura* (mesa) como no tomate para processamento. Este fungo apresenta um amplo círculo de plantas hospedeiras, sendo relatado como parasita de cerca de 200 espécies vegetais (Kurozawa & Pavan, 2005; Agrios, 2005). A doença ocorre principalmente no Sul e no Sudeste do Brasil onde severos danos vêm sendo relatados (Reis & Boiteux, 2006a).

Verticillium dahliae é um fungo mitospórico que apresenta em meio de cultura micélio hialino, septado e ramificado. Seus conidióforos apresentam ramificações verticiladas em cujas extremidades são produzidos conídios unicelulares, hialinos e ovóides. À medida que a cultura envelhece, formam-se clamidósporos em grande número que se aglutinam, constituindo microescleródios de cor preta (Fradin & Thomma, 2006). A formação de microescleródios é favorecida por temperaturas entre 10°C a 20°C. A disseminação deste patógeno no campo se dá através de máquinas e equipamentos contaminados e por água de chuva ou irrigação. A disseminação a longas distâncias é feita pelas sementes e mudas contaminadas. A sobrevivência no solo ocorre na forma de clamidósporos e/ou

microescleródios. Esta também ocorre em restos de cultura ou em plantas voluntárias e invasoras (Kurozawa & Pavan, 2005).

Os sintomas da murcha-de-verticílio apresentam algumas similaridades com os da murcha de *Fusarium*, no entanto são mais suaves. A murcha acontece simultaneamente com a clorose e com a necrose das folhas baixas que adquirem uma mancha com o formato de um “V” invertido. As plantas doentes também apresentam escurecimento vascular, porém de intensidade menor do que na murcha-de-fusário. É comum aparecer folhas com murcha de um só lado da planta. As plantas podem ter o crescimento reduzido, como também o tamanho dos frutos, causando grande queda na produção (Lopes *et al.*, 2005).

A murcha-de-verticílio do tomateiro há algum tempo tinha se tornado uma doença secundária devido ao uso de cultivares resistentes à raça 1 do patógeno. No entanto, o aparecimento e ampla disseminação da raça 2 têm acarretado grandes prejuízos aos produtores brasileiros (Reis & Boiteux, 2006a). A raça 2 foi inicialmente relatada causando danos esporádicos em tomate industrial em Pernambuco (Laterrot *et al.*, 1983), em tomate de mesa em São Paulo (Cerezine *et al.*, 1990) e no Distrito Federal (Santos & Lopes, 1995), havendo posteriormente surtos epidêmicos nas regiões Sul e Sudeste (Reis & Boiteux., 2006a).

Em algumas cultivares de tomate existe um gene que codifica para resistência à raça 1 do patógeno, o gene *Ve*, que foi identificado dentro de um acesso da espécie cultivada, *S. lycopersicum* (Diwan *et al.*, 1999). A resistência do tomateiro à raça 1 do patógeno tem herança simples, monogênica e dominante (Bender & Shoemaker, 1984; Kawchuk *et al.*, 2001). No entanto, a resistência à raça 2, que se tem obtido até o momento, é de herança mais complexa, podendo ser quantitativa e/ou isolado-específica (Baergen *et al.*, 1993). Alguns cultivares previamente relatados como resistentes à raça 2 do patógeno apresentaram resposta de suscetibilidade quando inoculados com alguns isolados brasileiros (Santos, 1997). O

presente trabalho teve como objetivo avaliar um conjunto acessos de tomateiro cultivados e selvagens [gênero *Solanum* (secção *Lycopersicon*)] quanto à reação à murcha-de-verticílio, buscando identificar fontes de resistência às raças 1 e 2 do fungo *V. dahliae*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

(a) Produção de inóculo de *Verticillium dahliae*

A produção de inóculo do patógeno seguiu um protocolo descrito por Santos (1997). Um isolado de *V. dahliae* raça 1 já caracterizado e com virulência alta em tomateiro (Vert. 94, isolado de berinjela e proveniente de Brazlândia - DF) foi cultivado em meio BDA + rifampicina (antibiótico) por sete dias. Após este período, retirou-se um disco de 1 mm do meio com crescimento abundante do micélio e colocou-se em um Erlenmeyer contendo 100 mL do meio líquido BD (batata + dextrose). Em seguida, o fungo foi colocado em crescimento por 15 dias em agitador automático à temperatura de $(23 \pm 2^{\circ}\text{C})$ em ambiente escuro. Após este processo, filtrou-se a suspensão de esporos em gaze dupla e ajustou-se a concentração do inóculo, através de hemacitômetro, para 10^6 conídios/ml.

(b) Avaliação inicial da resposta de acessos de *Solanum* (secção *Lycopersicon*) com um isolado de *Verticillium dahliae*

Em um primeiro ensaio, respostas de acessos de *Solanum* (secção *Lycopersicon*) a um isolado de *V. dahliae* raça 1 foram avaliadas de acordo com um protocolo adaptado de Santos (1997). O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília (DF). Foi avaliada uma coleção de 100 acessos de tomateiro do banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças (Tabela 1.2). Os acessos que serviram como controles foram as cultivares de tomateiro ‘Ponderosa’ (suscetível) e ‘Floradade’ (resistente à raça 1,

devido à presença do gene *Ve*), berinjela (*Solanum melongena*) cv. ‘Ciça’ e jiló (*Solanum gilo*) cv. ‘Morro Redondo’ (suscetíveis a ambas as raças). Os acessos foram semeados em bandejas de poliestireno contendo substrato para produção de hortaliças Plantmax[®]. As cultivares de berinjela e jiló, foram semeadas uma semana antes das de tomate. As mudas foram inoculadas quando atingiram o ponto de transplântio (dois pares de folhas verdadeiras).

A inoculação foi feita através da retirada das mudas das bandejas, lavagem das raízes e o corte de suas pontas (2 cm). Em seguida, as raízes foram imersas por um minuto na suspensão de conídios em Becker de 100 mL contendo 50 mL da suspensão preparada anteriormente. Após isto, as mudas foram transplantadas para vasos de 1,5L contendo solo esterilizado. Estes vasos haviam sido previamente irrigados (duas horas antes do plantio) até o ponto de escorrimento. Em seguida, adicionou-se 5 mL da suspensão de conídios ao colo de cada plântula. As plantas não foram irrigadas no dia da inoculação para evitar a perda do inóculo através de escorrimento. As irrigações foram retomadas a partir do segundo dia após a inoculação, somente quando fosse necessário. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas de quatro plantas por vaso e três repetições.

A avaliação dos acessos foi feita 30 dias após a inoculação. Observou-se a presença de sintomas externos e escurecimento vascular, verificado através do corte transversal no colo de cada planta. Adotou-se uma escala de notas, proposta por Reis & Boiteux (2007), em que: 1 = plantas sem sintomas; 2 = plantas sem sintomas de murcha ou amarelecimento, mas com leve escurecimento vascular; 3 = plantas com escurecimento vascular intenso e/ou com murcha ou amarelecimento foliar; 4 = plantas com murcha intensa, associada com amarelecimento, necrose foliar e seca de ramos e 5 = plantas mortas. Os acessos que apresentaram notas médias entre 1 e 2 foram considerados resistentes e aqueles com notas acima de “2” foram considerados suscetíveis. Os acessos resistentes foram selecionados para serem avaliados quanto à resistência a cinco isolados de *V. dahliae* raças 1 e 2.

(c) Avaliação da resistência de acessos pré-selecionados a cinco isolados de *Verticillium dahliae* (raças 1 e 2).

Este experimento visou avaliar de maneira mais refinada em 40 acessos que apresentaram níveis de resistência promissores no primeiro ensaio. No presente ensaio foram quantificados os seguintes parâmetros epidemiológicos: período de incubação (PI), definido como o período entre a inoculação e o aparecimento de sintomas (Van der Plank, 1963), e índice de doença (ID), baseado na severidade final. Os acessos que não apresentaram sintomas tiveram o PI ajustado para 31 dias (30 dias de avaliação acrescido de um dia), conforme proposto por Iamsupasit *et al.* (1993). Os 40 acessos, que foram resistentes no primeiro ensaio foram avaliados quanto à reação a quatro isolados de *V. dahliae* de diversas origens, sendo dois pertencentes à raça 1 e dois pertencentes à raça 2 (tabela 1.1), além de serem reavaliados quanto à resistência aos isolados do “screening”, para a confirmação da reação apresentada anteriormente. A produção de mudas dos genótipos e do inóculo seguiu a mesma metodologia descrita acima. O PI foi avaliado, diariamente, a partir do 15º dia após a inoculação, quando apareceram os primeiros sintomas em algum dos acessos. A avaliação do PI foi concluída no 30º dia da inoculação, quando foi feita a avaliação da severidade final.

Na conclusão do experimento, avaliou-se a severidade final através da adaptação da escala de notas descrita anteriormente, em que 0 = plantas sem sintomas; 1 = plantas sem sintomas de murcha ou amarelecimento, mas com leve escurecimento vascular; 2 = plantas com escurecimento vascular intenso e/ou com murcha ou amarelecimento foliar; 3 = plantas com murcha intensa, associada com amarelecimento, necrose foliar e seca de ramos e 4 = plantas mortas (precisa repetir?). A partir destes dados foi calculado o índice de doença, em que $ID (\%) = 100.S[(f.v)/(n.x)]$, sendo f - número de plantas com a mesma nota; v - nota observada; n - número total de plantas avaliadas e x - nota máxima da escala (Dalbosco *et al.*, 2002). Os dados de PI e ID foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de

agrupamentos de médias Scott-Knott através do programa de análises estatísticas SisVar ver. 4.2 (Ferreira, 2003). O teste de correlação (Teste t, a 5% de probabilidade) foram feitos através do programa Assistat (Silva & Azevedo, 2002).

3. RESULTADOS

Baseado na escala de notas, os 100 acessos avaliados foram classificados como suscetíveis ou resistentes para o isolado ‘Vert.94’ (raça 1) do patógeno. Um total de 40 acessos (incluindo o padrão de resistência ‘Floradade’) apresentou resposta classificada como resistente e os outros 60 acessos (incluindo o padrão de suscetibilidade ‘Ponderosa’) foram classificados como suscetíveis (Figura 1.1). No grupo dos resistentes estavam acessos pertencentes às espécies *S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. peruvianum* e *S. pimpinellifolium*. Destes, destacaram-se dois acessos de *S. habrochaites* (‘CNPH-0417’ e ‘CNPH-0421’) e um de *S. lycopersicum* (‘CNPH-0437’), que apresentaram reação de imunidade neste experimento (Tabela 1.2).

No segundo ensaio, a maior parte (27) dos 40 acessos avaliados com o isolado ‘Vert. 94’ (raça 1) voltaram a expressar resistência, em bons níveis, confirmando a reação observada no primeiro ensaio. Entretanto, os acessos ‘CNPH-0417’ e ‘CNPH-0421’ não confirmaram a imunidade apresentada no primeiro experimento. Os resultados das reações dos acessos avaliados quanto à resistência aos isolados de *V. dahliae*, com os valores dos parâmetros epidemiológicos PI e ID, encontram-se nas tabelas 1.3, 1.4, 1.5, 1.6 e 1.7. A análise de variância foi significativa e a diferenciação dos acessos de acordo com o critério PI foi significativa (Scott-Knott a 5% de probabilidade). A variedade ‘Ponderosa’ (controle suscetível) esteve entre acessos com menor PI, para todos os isolados inoculados, confirmando a sua condição de hospedeira “universal” de isolados de *Verticillium*. Os maiores

valores de PI utilizando o isolado 'Vert. 02' foram observados nos acessos 'CNPH-1039' e 'CNPH -1046', e menores em 'CNPH-0602' e 'CNPH-0785'. Frente ao isolado 'Vert. 12', os maiores valores de PI foram observados em 'CNPH-0437' e 'CNPH-1260', e menores em 'CNPH-0421' e 'CNPH-0797'. Frente ao isolado 'Vert. 94', os maiores valores foram observados em 'CNPH-0428' e 'CNPH-0431', e menores em 'CNPH-0419' e 'CNPH-1249'. Frente ao isolado 'Vert. 63', os maiores valores foram observados em 'CNPH-0424' e 'CNPH-1039', e os menores em 'CNPH-1112' e 'CNPH-1123'. Frente ao isolado 'Vert. 93', os maiores valores foram observados em 'CNPH-0538' e 'CNPH-0717' e menores em 'CNPH-0417' e 'CNPH-0419'.

Os acessos foram diferenciados de acordo com o ID (teste de Scott-Knott a 5%), sendo alocados em distintas classes de resistência. O grupo de acesso pertencente a cada classe foi variável de acordo com o isolado do patógeno utilizado. Frente ao isolado 'Vert. 02', os maiores valores de ID foram observados em 'CNPH-0602' e 'CNPH-0785', e os menores em 'CNPH-0428' e 'CNPH-0431'. Frente ao isolado 'Vert. 12', maiores valores foram observados em 'CNPH-0421' e 'CNPH-1048' e os menores em 'CNPH-1122' e 'CNPH-1260'. Frente ao isolado 'Vert. 94', os maiores valores foram observados em 'CNPH-1123' e 'CNPH-1249', e os menores em 'CNPH-1038' e 'CNPH-1120'. Frente ao isolado 'Vert. 63', os maiores valores foram observados em CNPH-0417 e 'CNPH-1277' e menores em 'CNPH-0424' e 'CNPH-0428'. Frente ao isolado 'Vert. 93', os maiores valores foram observados em 'CNPH-0785' e 'CNPH-1498', e os menores em 'CNPH-0437' e 'CNPH-0439'. A virulência e identidade dos isolados foi confirmada pelas respostas de suscetibilidade a todos os isolados do patógeno exibidas pela a cultivar de tomate 'Ponderosa' ('CNPH-0878'), berinjela cv. 'Çiça' e jiló cv. 'Morro Redondo'. Por sua vez, a cultivar 'Floradade' ('CNPH-0010') demonstrou resistência a isolados da raça 1 e suscetibilidade a isolados da raça 2.

Foram identificados acessos resistentes a pelos menos um isolado da raça 1, pertencentes a *S. lycopersicum* e *S. habrochaites* com destaque para ‘CNPH-1046’, ‘CNPH-1039’ e ‘CNPH-1122’. Acessos resistentes a pelo menos um isolado da raça 2 foram identificados nas espécies *S. lycopersicum* e *S. habrochaites* com destaque para ‘CNPH-0424’, ‘CNPH-0427’ e ‘CNPH-0431’. O acesso ‘CNPH-0431’ apresentou alta resistência no primeiro e no segundo ensaio para o isolado ‘Vert.94’ (raça 1). Além disso, este acesso mostrou resposta resistente aos isolados ‘Vert.02’ e ‘Vert.12’ (ambos classificados como raça 1) e ao isolado ‘Vert.93’ (raça 2). Entretanto, ‘CNPH-0431’ não foi resistente ao isolado ‘Vert.63’, também classificado anteriormente como raça 2. Foram identificados acessos (exclusivamente dentro espécie *S. lycopersicum*) com resistência parcial a todos os isolados inoculados com destaque para ‘CNPH-0698’, ‘CNPH-0428’ e ‘CNPH-1120’. É interessante mencionar que não foram freqüentes acessos de espécies selvagens com bons níveis de resistência. Foram constatadas correlações significativas ($P \leq 0,01$) entre o PI e o ID, a qual variou de 40% a 70% e foi negativa, conforme esperado (tabela 1.8).

4. DISCUSSÃO

No ensaio de pré-seleção, foi observado que a maioria dos acessos resistentes pertencia à espécie cultivada *S. lycopersicum*. É interessante notar que vários destes acessos comerciais tornaram-se obsoletos e foram substituídos por materiais mais produtivos ou com outras características demandadas pelo mercado consumidor. Muito provavelmente estes acessos possuem o gene *Ve*, que controla resistência à raça 1 (Bender & Shoemaker, 1984). A mesma reação foi encontrada em alguns acessos de espécies selvagens. Entretanto, boa parte destes não apresentou a mesma reação quando reinoculada com o mesmo isolado, indicando que esta “resistência” pode ter se dado por escape ou que é quantitativa sendo influenciada

pelos componentes ambientais. Reforçando esta hipótese, observou-se que os mesmos acessos não demonstram resistência aos outros isolados tanto da raça 1 quanto da raça 2. Os resultados do primeiro ensaio confirmam a escassez de acessos selvagens que apresentam resistência ao patógeno, sendo mais comuns em acessos cultivados (Santos *et al.*, 2003).

No segundo experimento, os acessos foram alocados em grupos, para cada componente epidemiológico avaliado (PI e ID). A reação diferencial a diversas raças de um patógeno (no caso deste trabalho, resistência a isolados da raça 2 de *V. dahliae* e suscetibilidade à raça 1 e vice-versa), demonstrou que parte dos acessos avaliados pode ser utilizada como diferenciadora, principalmente no caso de ocorrência de uma terceira raça. O presente trabalho verificou também diferenças de severidade da murcha-de-verticílio nos acessos de tomateiro inoculados, sendo mais freqüente a presença de acessos resistentes a isolados da raça 1 do que da raça 2, confirmando resultados obtidos por Cerezine (1989). Entretanto, com o predomínio da raça 2 do patógeno no Brasil (Reis *et al.*, 2007), indica a grande necessidade de intensificar a busca por acessos que apresentem resistência a isolados deste variante do patógeno (Okie *et al.*, 1982).

As cultivares de berinjela ‘Ciça’ e jiló ‘Morro Redondo’, utilizadas apenas para confirmar a virulência dos isolados de *V. dahliae*, demonstraram ser altamente suscetíveis a todos os isolados que foram utilizados neste trabalho. De fato, para estas hortaliças não existem boas fontes de resistência, somente plantas segregantes em acessos avaliados quanto à resistência ao fungo (Braverman, 1963; Sudo *et al.*, 1969). A mesma reação de suscetibilidade foi observada em ‘Ponderosa’ (‘CNPH-0878’), para os isolados de ambas as raças e em ‘Floradade’ (‘CNPH-0010’) para os isolados da raça 2, confirmando resultados anteriores (Santos, 1997; Reis & Boiteux 2006b e Reis *et al.* 2007). O isolado ‘Vert.12’, proveniente de quiabo, foi virulento a 20% dos acessos de tomateiro inoculados no segundo ensaio, e outros 43% apresentaram reação intermediária. A reação dos tomateiros ao isolado de quiabeiro e a

de berinjela e jiló a todos os isolados comprovam a natureza polífaga de *V. dahliae* (Reis & Boiteux, 2006b). Apesar disso, existem trabalhos que separam isolados do fungo de acordo com o hospedeiro e através da reação de várias espécies em testes de inoculação cruzada, como demonstrado por Bhat & Subbarao (1999).

Alguns acessos apresentaram resistência aparentemente do tipo “horizontal” ou “parcial” (exemplo ‘CNPH-0698’ e ‘CNPH-1120’) e outros resistência do tipo “vertical” ou “raça-específica” (como ‘CNPH-0431, para todos os isolados da raça 1) *sensu* Van der Plank (1963). Com a existência de duas raças fisiológicas do patógeno confirmadas, é de grande importância o desenvolvimento de cultivares que possuam um espectro de resistência mais amplo (resistência horizontal), combinada com a presença de genes maiores para resistência a ambas as raças. A maior parte dos acessos que demonstraram melhor desempenho pertence à espécie cultivada de tomateiro, *S. lycopersicum*, destacando-se os acessos que apresentaram resistência do tipo “horizontal” a todos os isolados inoculados, embora em número reduzido. A grande vantagem da identificação de resistência em cultivares comerciais deve-se ao fato de que estas já apresentam diversas características de interesse e poucas características indesejáveis (muito comuns em acessos de espécies selvagens), que necessitam ser eliminadas ao longo do processo de melhoramento genético.

Um maior período de incubação é um componente de resistência parcial de uma espécie de planta hospedeira a um dado patógeno (Van der Plank, 1963). Para alguns acessos inoculados com *V. dahliae*, observou-se PI maiores, sendo que, algumas vezes, os sintomas se tornam evidentes somente na avaliação final. Entretanto, verificaram-se em muitos dos acessos considerados suscetíveis no presente trabalho a combinação de PI altos e ID bastante elevado. Isso pode ser atribuído ao fato de que na avaliação do PI considerou-se somente os sintomas externos e excluindo a avaliação de sintomas internos. Os sintomas internos envolvem avaliações destrutivas e foram estimados somente na severidade final (dados do

ID). Para as plantas que não apresentaram escurecimento vascular, foram atribuídas notas de valor 0,00 e, conseqüentemente, com valores reduzidos de ID, sendo classificadas como resistentes. Logicamente, os acessos com PI igual ou próximo a 31 podem apresentar o ID igual ou próximo de zero. Neste caso, PI se apresenta como melhor parâmetro, uma vez que permitiu uma seleção de acessos resistentes de maneira mais rápida.

A reação do acesso 'CHPH-0431' aos diversos isolados avaliados foi inesperada, considerando a existência de apenas duas raças do patógeno. Novos estudos, com este e alguns outros acessos da hospedeira são necessários. A inoculação de diversos acessos (resistentes a uma ou às duas raças) com isolados das duas raças, de diferentes hospedeiras e locais de procedência, pode ajudar a esclarecer a existência ou não de mais raças do patógeno. De fato, Baergen *et al.* (1993) já haviam verificado que acessos de tomateiro norte-americanos classificados como resistentes à raça 2 do patógeno foram suscetíveis a isolados brasileiros da mesma raça do patógeno. No entanto, é preciso considerar, também, que este resultado obtido pode ser devido a outros aspectos, tais como agressividade diferencial dos isolados, condições ambientais dos experimentos e até mesmo erro experimental.

A correlação significativa e negativa observada entre PI e ID para todos os isolados testados mostra que, no geral, quanto maior os valores de PI menores serão os valores do ID. Levando em consideração o que foi discutido acima sobre o PI e os resultados do teste de correlação, neste trabalho o parâmetro mais seguro para selecionar os acessos quanto à resistência à murcha-de-verticílio foi o ID. Este parâmetro pode ser utilizado individualmente ou em conjunto com outros parâmetros epidemiológicos (não avaliados no presente trabalho) nos testes de identificação de acessos de tomate com resistência à *V. dahliae*.

Acessos que demonstraram resistência à pelo menos um isolado e que possuem valores de ID menores quando comparados com acessos suscetíveis podem ser considerados como resistentes a este isolado. Cerezine (1989) verificou valores de ID menores que 30%

para variedades de tomateiro resistentes a ambas as raças do patógeno ('Ohio 12' e 'Petomech VF 1+2'). Alguns acessos, tais como 'CNPH-0698 e 'CNPH-1120', apresentaram resistência a isolados de ambas as raças, apresentando, portanto, resistência estável, possuindo valores de PI iguais ou próximos de 31 dias e ID abaixo dos 25%. De acordo com Van der Plank (1963), a resistência vertical, raça-específica ou imunidade pode ser facilmente quebrada devido à variabilidade do patógeno. A quebra de resistência de acessos de tomateiro por isolados de *V. dahliae* raça 2 pode ser explicada pela utilização maciça de cultivares portadoras do gene *Ve*, que confere resistência a isolados da raça 1 (Cerezine *et al.*, 1991). Este uso maciço representou uma enorme pressão de seleção para isolados virulentos às cultivares portadoras do gene *Ve*. A resistência do gene *Ve* apresenta grande estabilidade, pois tomateiros que possuem o gene *Ve*, como 'Floradade', e 'Marmande VR' sempre quando inoculados com uma grande coleção de isolados da mesma raça, apresentam resistência vertical ao patógeno (Laterrot *et al.*, 1983; Reis *et al.*, 2007). A pouca mobilidade do patógeno e a natureza monocíclica da doença, características de murchas vasculares (Agrios, 2005; Mizubuti & Maffia, 2006), pode ter contribuído para a "durabilidade" dessa resistência do gene *Ve*. Na época em que foi relatada no Brasil, a murcha causada pela raça 2 do patógeno causava danos esporádicos em tomateiros industriais do estado de Pernambuco (Laterrot *et al.*, 1983) e tomate de mesa em São Paulo (Cerezine, 1989) e no Distrito Federal (Santos & Lopes, 1995).

A resistência para a raça 2 de *V. dahliae* observada em acessos de tomateiro neste trabalho parece ser apenas do tipo quantitativa e poligênica (Van der Plank, 1963). Entretanto, para melhor entendimento da mesma, é necessária a caracterização genética da resistência via estudos de herança e/ou alelismo para a confirmação da presença de prováveis novos genes, maiores ou menores, os quais poderão ser piramidados em cultivares comerciais, conforme discutido por Reis & Boiteux (2006c). Estudos recentes sobre variabilidade patogênica de certos patógenos indicam a ineficácia de criação de materiais com genes de efeito maior, ou

seja, que apresentam resistência vertical a uma raça específica, devido à facilidade de aparecimento de novas raças/estirpes capazes de 'quebrar' esta resistência (Gonçalves *et al.*, 2007; Mattos *et al.*, 2003; Miranda & Reis, 2006). Isto pode dificultar um pouco mais os programas de melhoramento, que visem à incorporação de resistência às duas raças de *V. dahliae* em cultivares comerciais de tomate. A incorporação de resistência do tipo “horizontal” é mais trabalhosa, demorada e de fenotipação mais complicada. No entanto pode ser uma vantagem no longo prazo, uma vez que, de acordo com Medeiros (2004), a utilização de poucos genes em programas de melhoramento, sem levar em conta a possibilidade da utilização de um grupo de genes cuja resistência proporcionada seja de amplo espectro, pode fazer com que a resistência seja pouco durável. Por outro lado, o aproveitamento da resistência existente, bem como sua complementação com genes de maior espectro de resistência, pode contribuir para a durabilidade da mesma.

É de grande importância a caracterização quanto à resistência a doenças de acessos cultivados e selvagens disponíveis nos bancos de germoplasma no Brasil e no mundo. Estes bancos apresentam potenciais novas fontes de resistência para o melhoramento genético, podendo ser combinado com outros fatores desejáveis, como resistência a vários patógenos e características agronômicas ideais para determinada cultura, de acordo Atibalentja & Eastburn (1998). Entretanto, para os mesmos autores, é importante que esta resistência seja incorporada em acessos cultivados e testada em condições de campo. Para culturas de importância social, alto risco econômico e de intenso controle fitossanitário como o tomateiro (Filgueira, 2005), a identificação de acessos promissores é essencial.

Os resultados obtidos neste trabalho são favoráveis à utilização dessas novas fontes de resistência para futuros programas de melhoramento genético do tomateiro, visando resistência às duas raças de *V. dahliae*. Entretanto, para a manutenção da estabilidade dos novos materiais vindouros, é necessária a integração do controle genético da doença com

outras medidas de controle da doença e o estudo constante de aspectos referentes à variabilidade do patógeno, como a existência de novas raças. Além disso, há a necessidade de mais testes com um número maior de isolados de variadas procedências e de ambas as raças, para que se desenvolvam materiais mais adequados para as mais diferentes regiões produtoras. Estes testes também devem ser feitos várias condições ambientais e em locais que diferentes intensidades de doença, para comprovar se essa resistência é, de fato, estável (Mello, 1995; Paula & Oliveira, 2003).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. FNP Consultoria e comércio. Anuário da agricultura brasileira. São Paulo. 2008.

AGRIOS, G. N. Plant Pathology 5^a ed. Burlington: Elsevier. 2005.

ATIBAIENTJA, N. & EASTBURN, D. M. *Verticillium dahliae* resistance in horseradish germ plasm from the University of Illinois Collection. Plant Disease 82: 176-180. 1998.

BAERGEN, K. D. ; J.D. HEWITT, D. A. & ST. CLAIR, D. A. Resistance of tomato genotypes to four isolates of *Verticillium dahliae* race 2. HortScience 28: 833-836. 1993.

BENDER, C. G. & SHOEMAKER, P. B. Prevalence of *Verticillium* wilt of tomato and virulence of *Verticillium dahliae* race 1 and race 2 isolates in western North Carolina. Plant Disease 68: 305-309. 1984.

BHAT, R. G. & SUBBARAO, K. V. Host range specificity in *Verticillium dahliae*. Phytopathology 89:1218-1225. 1999.

BORGES, L. C. & FERREIRA, D. F. Poder e taxas de erro tipo I dos testes Scott-Knott, Tukey e Student-Newman-Keuls sob distribuições normal e não normais dos resíduos. *Revista de Matemática e Estatística* 21(1): 67-83. 2003.

BRAVERMAN, S. W. Screening eggplant for resistance to *Verticillium* wilt. *Phytopathology* 53: 343. 1963. (Abstract).

CEREZINE, P. C. Murcha de *Verticillium* em tomateiro: variabilidade do patógeno e comportamento de variedades (Dissertação de mestrado). Botucatu: UNESP. 80p. 1989.

CEREZINE, P. C.; KUROZAWA, C. & MISCHAN, M. M. Variabilidade patogênica de *Verticillium albo-atrum* em tomateiro. *Summa Phytopathologica* 16: 28. 1990. (Resumo).

CEREZINE, P. C.; KUROZAWA, C. & MISCHAN, M. M. Murcha de *Verticillium* em tomateiro: 1. Influência do potencial de inóculo de *Verticillium dahliae* no comportamento de variedades de tomateiro Ângela Hiper e Marmade VR. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26: 2043-2054. 1991.

DALBOSCO, M., SCHONS, J. & PRESTES, A. M. Incidência e índice de doença do mosaico do trigo em cereais de inverno e em gramíneas de verão, associados ao *Polymyxa graminis*. *Fitopatologia Brasileira* 27: 48-52. 2002.

DIWAN, N.; FLUHR, R.; ESHED Y.; ZAMIR D. & TANKSLEY S.D. Mapping of *Ve* in tomato: a gene conferring resistance to the broad-spectrum pathogen, *Verticillium dahliae* race 1. *TAG* 98: 315-319. 1999

FAO – ONU. Disponível em www.fao.org. Acesso em outubro de 2007.

FERREIRA, D. R. Sisvar versão 4.2. DEX/UFLA. 2003.

FILGUEIRA, F. A. R. Solanáceas II. Tomate: a hortaliça cosmopolita. In: Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna para a produção de hortaliças. 2^a edição revista e ampliada. Viçosa: Ed. UFV. p. 193-238. 2005.

GIORDANO, L. B.; ARAGÃO, F. A. S. & BOITEUX, L. S. Melhoramento genético do tomateiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 24. n. 219. 43-57. 2003.

GONÇALVES, M. C., SANTOS, A. S., MAIA, I. G., CHAGAS, C. M. & HARAKAVA, R. Caracterização de um isolado do *Sugarcane mosaic virus* que quebra a resistência de variedades comerciais de cana-de-açúcar. Fitopatologia Brasileira 32: 32-39. 2007.

IAMSUPASIT, N.; CHAKRABORTY, S.; CAMERON, D.F. & ADKINS, S.W. Components of quantitative resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in tetraploid accessions of the pasture legume *Stylosanthes hamata*. Australian Journal of Experimental Agriculture 33: 855-860. 1993.

KAWCHUK, L.M.; HACHEY, J.; LYNCH, D.R.; KULCSAR, F.; VAN ROOIJEN, G.; WATERER, D.R.; ROBERTSON, A.; KOKKO, E.; BYERS, R.; HOWARD, R.J.; FISCHER, R. & PRÜFER, D. Tomato *Ve* disease resistance gene encode cell surface-like receptors. Proceedings of the National Academy of Science USA 98: 6511-6515. 2001.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M. A., 1998. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L. E. A. & REZENDE, J. A. M. Manual de Fitopatologia vol II: Doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 607-626. 2005.

LATERROT, H.; MELO, P. C. T. & BLANCARD, D. Ocorrência da raça 2 de *Verticillium* em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil.) no Estado de Pernambuco, Brasil. Horticultura Brasileira 1: 22-25. 1983.

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

MALUF, W. R. Uso de espécies selvagens no melhoramento do tomateiro. Horticultura Brasileira 3: 46-51. 1985.

MATTOS, C.R.R.; GARCIA, D.; PINARD, F. & LE GUEN, V. Variabilidade de isolados de *Microcyclus ulei* no Sudeste da Bahia. Fitopatologia Brasileira 28: 502-507. 2003.

MEDEIROS, L. A. M. Resistência genética de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum*. Tese de doutorado. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 84p. 2004.

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

MIRANDA, B. E. C. & REIS, A. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* obtidos de tomateiro. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 15. Brasília: Embrapa Hortaliças. 2006.

MIZUBUTI, E. S. G. & MAFFIA, L. A. S. Introdução à Fitopatologia. Caderno Didático 115. Viçosa: Ed. UFV. 190p. 2006.

OKIE, W. R. & GARDNER, R. G. Screening tomato seedlings for resistance to *Verticillium dahliae* races 1 and 2. Plant Disease 66: 34-37. 1982.

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

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Murcha-de-verticillium: um sério problema para o cultivo de hortaliças no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 40. 11p. 2006a.

REIS, A. & BOITEUX, L. S. Círculo de hospedeiras de isolados de *Verticillium dahliae* obtidos de tomateiro, quiabeiro e morangueiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 21. 16p. 2006b.

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

REIS A. & BOITEUX L. S. Outbreak of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in commercial fresh-market tomato fields in Rio de Janeiro State, Brazil. Horticultura Brasileira 25: 451-454. 2007.

REIS, A.; BOITEUX, L. S. & COSTA, H. Determinação de espécies e de raças de isolados de *Verticillium* oriundos de diferentes Estados do Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 31. 13p. 2007.

SANTOS, J. R. M. Methodology for screening tomato for Fusarium Wilt, Verticillium Wilt, Gray Leaf Spot, Early Blight and Septoria Leaf Blight. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1., INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES, 1., 1996, Recife. Proceedings. Alexandria: ASHS: IPA. p. 164- 166. 1997.

SANTOS, J.R.M. & LOPES, C.A. Ocorrência de *Verticillium dahliae* raça 2 em tomateiro no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira* 20:355. 1995. (Resumo).

SANTOS, J. R. M.; REIS, A.; BOITEUX, L. S. & GIORDANO, L. B. Fontes de resistência genética múltipla a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2 e *Verticillium dahliae* raça 2 em germoplasma de *Lycopersicon*. *Summa Phytopathologica* 30: 110-111. 2004. (Resumo).

SILVA, F. A. S; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais* 4: 71-78. 2002.

SUDO, S.; AKIBA, F.; RIBEIRO, R. L. D. Teste preliminar de resistência varietal ao fungo *Verticillium* spp. em jiló (*S. gilo* Raddi). Goiânia: IX Reunião Anual da Sociedade de Olericultura do Brasil. 1969.

VAN DER PLANK, J. E. *Plant diseases: epidemics and control*. New York: Academic. 349p. 1963.

Tabela 1.1. Isolados de *Verticillium dahliae* utilizados na seleção definitiva

| Isolado | Origem | Ano | Hosp. | Raça |
|----------------|---------------|------------|--------------|-------------|
| Vert. 02 | Botucatu – SP | 1997 | Tomate | 1 |
| Vert. 12 | Lavras-MG | 1997 | Quiabo | 1 |
| Vert. 63 | Caçador – SC | 2005 | Tomate | 2 |
| Vert. 93 | Araguari – MG | 2006 | Tomate | 2 |
| Vert.94 | Brazlândia-DF | 2007 | Berinjela | 1 |

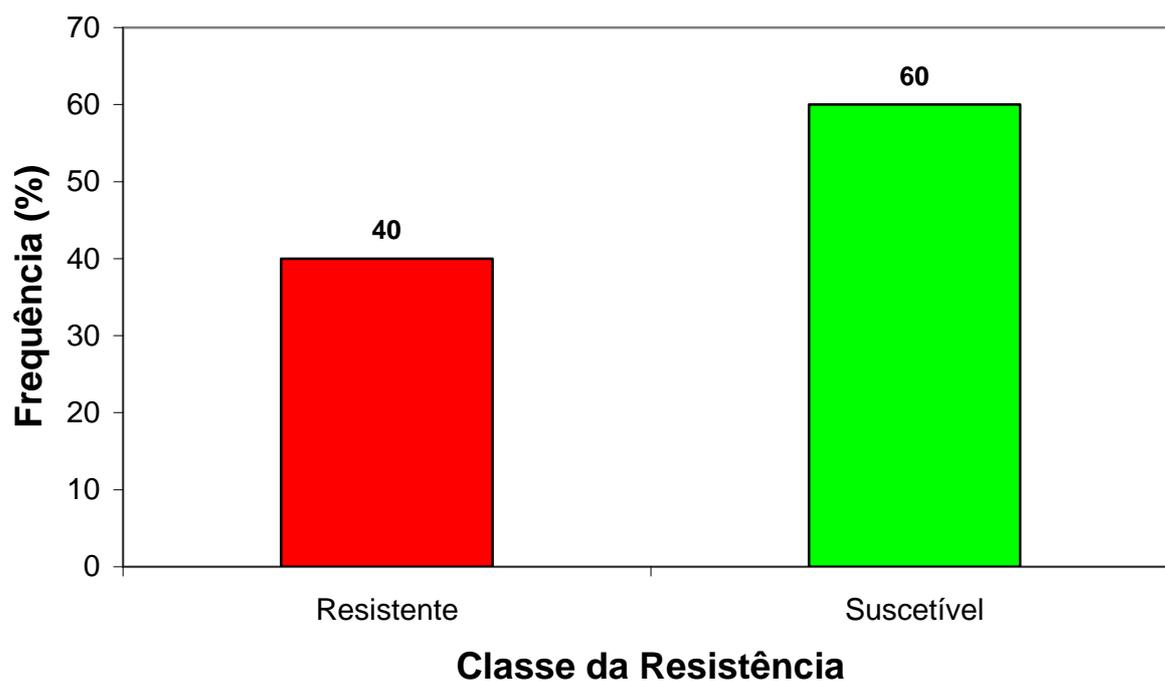


Figura 1.1. Porcentagem de acessos de tomateiro resistentes e suscetíveis ao isolado Vert. 94 (raça 1) de *Verticillium dahliae* na seleção preliminar (“Screening”).

Tabela 1. 2. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert. 94, raça 1, de *Verticillium dahliae*, na seleção preliminar (“Screening”).

| Genótipo | Espécie | Cultivar/linhagem/pedigree | Nota | Reação |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------------|-------------|---------------|
| CNPH - 010 (FD) | <i>S. lycopersicum</i> | Floradade | 2,00 | R |
| CNPH - 878 (PD) | <i>S. lycopersicum</i> | Ponderosa | 3,16 | S |
| CNPH - 101 | <i>S. peruvianum</i> | PI 306811-67-N-4 | 2,82 | S |
| CNPH - 201 | <i>S. peruvianum</i> | LA 444-1 | 3,16 | S |
| CNPH - 374 | <i>S. peruvianum</i> | CMV Selection INRA | 3,00 | S |
| CNPH - 376 | <i>S. lycopersicum</i> | Columbia | 3,16 | S |
| CNPH - 378 | <i>S. lycopersicum</i> | Roza | 2,67 | S |
| CNPH - 382 | <i>S. pimpinellifolium</i> | PI 732293 | 2,55 | S |
| CNPH - 410 | <i>S. chilensis</i> | LA 1967 | 3,50 | S |
| CNPH - 416 | <i>S. habrochaites</i> | PI126445 | 1,16 | R |
| CNPH - 417 | <i>S. habrochaites</i> | PI 126449 | 1,00 | R |
| CNPH - 419 | <i>S. pimpinellifolium</i> | PI 126931 | 2,00 | R |
| CNPH - 421 | <i>S. habrochaites</i> | PI 127827 | 1,00 | R |
| CNPH - 424 | <i>S. habrochaites</i> | PI 13448 | 1,25 | R |
| CNPH - 427 | <i>S. lycopersicum</i> | IRAT-L3 | 1,58 | R |
| CNPH - 428 | <i>S. lycopersicum</i> | 72-TR-4-4 | 1,42 | R |
| CNPH - 431 | <i>S. lycopersicum</i> | Campbell - 28-1 | 1,08 | R |
| CNPH - 437 | <i>S. lycopersicum</i> | LA 1563 | 1,00 | R |
| CNPH - 439 | <i>S. lycopersicum</i> | Ohio 7870 | 1,25 | R |
| CNPH - 457 | <i>S. lycopersicum</i> | Rey de los Tempranos | 1,73 | R |
| CNPH - 525 | <i>S. lycopersicum</i> | Silvestre | 1,33 | R |
| CNPH - 538 | <i>S. lycopersicum</i> | (XPH5300)F2 | 1,08 | R |
| CNPH - 602 | <i>S. peruvianum</i> | Var. dentatum | 1,50 | R |
| CNPH - 610 | <i>S. peruvianum</i> | Desconhecido | 2,25 | S |
| CNPH - 663 | <i>S. lycopersicum</i> | Morioka #7 | 2,92 | S |
| CNPH - 668 | <i>S. lycopersicum</i> | Kagome 77 F1 | 2,83 | S |
| CNPH - 698 | <i>S. lycopersicum</i> | Ohio 4013 | 1,41 | R |
| CNPH - 707 | <i>S. lycopersicum</i> | Scoduro | 2,42 | S |
| CNPH - 717 | <i>S. lycopersicum</i> | Calmart | 1,25 | R |
| CNPH - 724 | <i>S. lycopersicum</i> | Mobaci | 2,92 | S |
| CNPH - 733 | <i>S. lycopersicum</i> | Floralon | 2,67 | S |
| CNPH - 750 | <i>S. peruvianum</i> | CLN 675-BC1-F2-285-0-21-0 | 2,67 | S |
| CNPH - 781 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6709 | 2,00 | R |
| CNPH - 782 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6708 | 2,42 | S |
| CNPH - 783 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6707 | 1,58 | R |
| CNPH - 784 | <i>S. peruvianum</i> | CGO6711 | 2,00 | R |
| CNPH - 785 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6712 | 1,75 | R |
| CNPH - 797 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1609 | 1,67 | R |
| CNPH - 798 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1616 | 2,00 | R |
| CNPH - 800 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2067 | 2,50 | S |
| CNPH - 803 | <i>S. lycopersicum</i> | Todo Royo | 2,58 | S |
| CNPH - 820 | <i>S. lycopersicum</i> | Quartuor F1 | 2,75 | S |
| CNPH - 854 | <i>S. lycopersicum</i> | Morioka#22 | 2,92 | S |
| CNPH - 859 | <i>S. lycopersicum</i> | Morioka#17 | 2,58 | S |
| CNPH - 864 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 121 | 2,25 | S |
| CNPH - 865 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 89 | 2,58 | S |
| CNPH - 866 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 3844 | 3,00 | S |
| CNPH - 871 | <i>S. lycopersicum</i> | Odoriko F1 | 3,00 | S |
| CNPH - 875 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 162 | 3,25 | S |
| CNPH - 876 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 3903 | 2,42 | S |
| CNPH - 893 | <i>S. lycopersicum</i> | Grécia#2 | 3,00 | S |

| | | | | |
|-------------|----------------------------|-----------------|------|---|
| CNPH – 925 | <i>S. pimpinellifolium</i> | LA 1614 | 3,83 | S |
| CNPH – 927 | <i>S.lycopersicum</i> | LA1425 | 2,25 | S |
| CNPH – 928 | <i>S.habrochaites</i> | WYR 3951 | 2,37 | S |
| CNPH – 931 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1270 | 2,67 | S |
| CNPH – 932 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1333 | 2,16 | S |
| CNPH – 933 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1677 | 2,08 | S |
| CNPH – 934 | <i>S. peruvianum</i> | WYR 2020 | 2,75 | S |
| CNPH – 935 | <i>S. peruvianum</i> | WYR 3957 | 2,40 | S |
| CNPH – 936 | <i>S. peruvianum</i> | WYR 3957 | 2,73 | S |
| CNPH – 940 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1113-3 | 3,50 | S |
| CNPH – 941 | <i>S. peruvianum</i> | ID 8623 | 3,00 | S |
| CNPH – 942 | <i>S. peruvianum</i> | ID 8624 | 2,92 | S |
| CNPH – 943 | <i>S. chilensis</i> | LA 1967 | 4,08 | S |
| CNPH – 944 | <i>S. chmielewskii</i> | LA 1036 | 2,92 | S |
| CNPH – 946 | <i>S. peruvianum</i> | TX 407 | 3,00 | S |
| CNPH – 969 | <i>S. lycopersicum</i> | Cannary Row | 3,00 | S |
| CNPH – 981 | <i>S. peruvianum</i> | LA 462 | 2,42 | S |
| CNPH – 1011 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | 3,00 | S |
| CNPH – 1012 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | 3,00 | S |
| CNPH – 1013 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | 3,00 | S |
| CNPH – 1014 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | 3,00 | S |
| CNPH – 1020 | <i>S. lycopersicum</i> | Mecline | 3,00 | S |
| CNPH – 1034 | <i>S. habrochaites</i> | Desconhecido | 2,00 | R |
| CNPH – 1035 | <i>S. peruvianum</i> | Desconhecido | 1,09 | R |
| CNPH – 1036 | <i>S. lycopersicum</i> | Desconhecido | 3,00 | S |
| CNPH – 1038 | <i>S. pimpinellifolium</i> | Luteum | 1,67 | R |
| CNPH – 1039 | <i>S. pimpinellifolium</i> | Desconhecido | 2,00 | R |
| CNPH – 1046 | <i>S. lycopersicum</i> | Hawaii 7998 | 1,18 | R |
| CNPH – 1048 | <i>S. lycopersicum</i> | Hawaii 7996? | 1,83 | R |
| CNPH – 1112 | <i>S. habrochaites</i> | Selvagem | 1,25 | R |
| CNPH – 1120 | <i>S. lycopersicum</i> | Philipino 2 | 2,00 | R |
| CNPH – 1122 | <i>S. habrochaites</i> | L. 03684 | 2,00 | R |
| CNPH – 1123 | <i>S. pimpinellifolium</i> | L. 03707 | 1,27 | R |
| CNPH – 1238 | <i>S. chilensis</i> | LA 1963 | 3,00 | S |
| CNPH – 1249 | <i>S. peruvianum</i> | LA 372 | 2,00 | R |
| CNPH – 1260 | <i>S. lycopersicum</i> | PI 126428 | 1,08 | R |
| CNPH – 1277 | <i>S. peruvianum</i> | PI 128660 | 2,42 | S |
| CNPH – 1289 | <i>S. habrochaites</i> | PI 128650 | 2,08 | S |
| CNPH – 1439 | <i>S. peruvianum</i> | LA 0454 | 2,00 | R |
| CNPH – 1440 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1274 | 1,08 | R |
| CNPH – 1452 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1609 | 2,33 | S |
| CNPH – 1453 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1626 | 2,00 | S |
| CNPH – 1463 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2512 | 2,11 | S |
| CNPH – 1464 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2157 | 2,37 | S |
| CNPH – 1467 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2185 | 2,50 | S |
| CNPH – 1470 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2732 | 3,00 | S |
| CNPH – 1471 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2744 | 3,00 | S |
| CNPH – 1498 | <i>S. peruvianum</i> | PI 114490 | 1,17 | R |
| CNPH – 1561 | <i>S. lycopersicum</i> | IRAT-L3 | 2,33 | S |
| CNPH – 1563 | <i>S. lycopersicum</i> | VFN-8 | 2,67 | S |

R = resistente; S = suscetível

Tabela 1.3. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert. 02 (*Verticillium dahliae* raça 1)

| Genótipo | PI | ID | Reação |
|-----------------|-----------|-----------|---------------|
| CNPH - 602 | 20,7 a | 56,2 d | S |
| CNPH - 785 | 20,7 a | 58,3 d | S |
| CNPH - 878 (PD) | 22,3 b | 46,0 d | S |
| CNPH - 1277 | 23,3 b | 56,3 d | S |
| CNPH - 1453 | 23,7 b | 54,3 d | S |
| CNPH - 419 | 24,6 b | 56,2 d | S |
| CNPH - 1498 | 24,6 b | 38,9 c | BR |
| CNPH - 1048 | 25,0 b | 39,9 c | BR |
| CNPH - 798 | 25,0 b | 50,3 d | S |
| CNPH - 784 | 25,0 b | 47,2 d | S |
| CNPH - 781 | 26,0 b | 37,4 c | BR |
| CNPH - 457 | 26,3 b | 38,9 c | BR |
| CNPH - 1112 | 27,0 c | 33,2 c | BR |
| CNPH - 1038 | 27,0 c | 30,3 b | R |
| CNPH - 417 | 28,0 c | 54,2 d | S |
| CNPH - 1123 | 28,0 c | 37,8 c | BR |
| CNPH - 424 | 28,7 c | 47,9 d | S |
| CNPH - 783 | 29,0 c | 47,2 d | S |
| CNPH - 538 | 29,3 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 1249 | 29,6 c | 22,9 b | R |
| CNPH - 1035 | 30,0 c | 29,2 b | R |
| CNPH - 525 | 30,0 c | 45,8 d | S |
| CNPH - 427 | 30,0 c | 35,5 c | BR |
| CNPH - 416 | 30,0 c | 14,6 a | AR |
| CNPH - 797 | 30,0 c | 52,7 d | S |
| CNPH - 1440 | 30,0 c | 33,1 c | BR |
| CNPH - 421 | 30,0 c | 4,2 a | AR |
| CNPH - 010 (FD) | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 717 | 30,0 c | 14,6 a | AR |
| CNPH - 1260 | 30,0 c | 33,3 c | BR |
| CNPH - 1046 | 30,0 c | 22,2 b | R |
| CNPH - 1039 | 30,0 c | 20,8 b | R |
| CNPH - 1120 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 437 | 30,3 c | 24,3 b | R |
| CNPH - 1439 | 30,5 c | 12,0 a | AR |
| CNPH - 431 | 30,6 c | 16,7 b | R |
| CNPH - 1034 | 30,7 c | 27,7 b | R |
| CNPH - 439 | 30,7 c | 6,2 a | AR |
| CNPH - 698 | 30,7 c | 18,1 b | R |
| CNPH - 428 | 30,9 c | 5,5 a | AR |
| CNPH - 1122 | 31,0 c | 0,0 a | AR |
| Média | 27,96 | 33,61 | |
| CV (%) | 6,88 | 23,73 | |

AR = altamente resistente; R = resistente; BR = baixa resistência; S = suscetível

Tabela 1.4. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert. 12 (*Verticillium dahliae* raça 1)

| Genótipo | PI | ID | Reação |
|-----------------|-----------|-----------|---------------|
| CNPH - 421 | 21,0 a | 50,0 c | S |
| CNPH - 878 (PD) | 21,0 a | 36,1 b | I |
| CNPH - 1048 | 21,6 a | 45,0 c | S |
| CNPH - 797 | 22,6 a | 46,0 c | S |
| CNPH - 602 | 24,6 b | 42,0 c | S |
| CNPH - 1039 | 25,0 b | 2,0 a | R |
| CNPH - 798 | 27,6 c | 27,6 b | I |
| CNPH - 457 | 27,6 c | 35,3 b | I |
| CNPH - 781 | 28,0 c | 29,3 b | I |
| CNPH - 424 | 28,6 c | 50,0 c | S |
| CNPH - 1453 | 29,0 c | 27,6 b | I |
| CNPH - 1035 | 29,0 c | 52,3 c | S |
| CNPH - 1112 | 29,0 c | 27,0 b | I |
| CNPH - 419 | 29,3 c | 37,6 c | S |
| CNPH - 1038 | 29,3 c | 17,0 a | R |
| CNPH - 525 | 29,7 c | 23,0 b | I |
| CNPH - 1277 | 29,7 c | 29,3 b | I |
| CNPH - 417 | 29,7 c | 37,7 c | S |
| CNPH - 698 | 30,0 c | 25,0 b | I |
| CNPH - 785 | 30,0 c | 25,0 b | I |
| CNPH - 1260 | 30,0 c | 25,0 b | I |
| CNPH - 1249 | 30,0 c | 25,0 b | I |
| CNPH - 439 | 30,3 c | 4,3 a | R |
| CNPH - 783 | 30,3 c | 33,3 b | I |
| CNPH - 416 | 30,3 c | 33,3 b | I |
| CNPH - 1439 | 30,5 c | 16,7 a | R |
| CNPH - 538 | 30,6 c | 18,3 a | R |
| CNPH - 428 | 30,6 c | 18,6 a | R |
| CNPH - 1498 | 30,6 c | 27,0 b | I |
| CNPH - 1440 | 30,6 c | 27,6 b | I |
| CNPH - 1123 | 30,6 c | 12,6 a | R |
| CNPH - 784 | 30,7 c | 10,0 a | R |
| CNPH - 1034 | 30,7 c | 16,6 a | R |
| CNPH - 427 | 30,7 c | 22,3 b | I |
| CNPH - 437 | 30,7 c | 10,6 a | R |
| CNPH - 1120 | 30,8 c | 10,3 a | R |
| CNPH - 1046 | 30,9 c | 2,0 a | R |
| CNPH - 010 (FD) | 30,9 c | 6,2 a | R |
| CNPH - 717 | 31,0 c | 0,0 a | R |
| CNPH - 431 | 31,0 c | 0,0 a | R |
| CNPH - 1122 | 31,0 c | 0,0 a | R |
| Média | 28,9 | 25,03 | |
| CV (%) | 7,57 | 49,91 | |

R = resistente; I = intermediário; S = suscetível

Tabela 1.5. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert. 63 (*Verticillium dahliae* raça 2)

| Genótipo | PI | ID | Reação |
|-----------------|-----------|-----------|---------------|
| CNPH - 1112 | 17,0 a | 50,0 b | S |
| CNPH - 1123 | 17,0 a | 58,0 b | S |
| CNPH - 783 | 18,3 a | 41,6 b | S |
| CNPH - 417 | 18,3 a | 48,0 b | S |
| CNPH - 1498 | 18,7 a | 44,3 b | S |
| CNPH - 1277 | 20,7 b | 48,0 b | S |
| CNPH - 781 | 21,7 b | 41,6 b | S |
| CNPH - 1038 | 22,0 b | 41,6 b | S |
| CNPH - 1048 | 22,0 b | 44,0 b | S |
| CNPH - 798 | 22,7 b | 44,3 b | S |
| CNPH - 878 (PD) | 22,7 b | 48,0 b | S |
| CNPH - 785 | 22,7 b | 42,0 b | S |
| CNPH - 797 | 22,7 b | 37,7 b | S |
| CNPH - 010 (FD) | 23,3 b | 44,7 b | S |
| CNPH - 1122 | 23,3 b | 50,0 b | S |
| CNPH - 784 | 23,6 b | 33,0 a | R |
| CNPH - 602 | 24,0 b | 29,0 a | R |
| CNPH - 439 | 24,3 b | 41,7 b | S |
| CNPH - 1249 | 24,3 b | 41,7 b | S |
| CNPH - 1453 | 24,3 b | 66,7 b | S |
| CNPH - 1440 | 25,3 b | 42,0 b | S |
| CNPH - 419 | 26,3 c | 33,7 a | R |
| CNPH - 431 | 26,7 c | 38,3 b | S |
| CNPH - 457 | 27,0 c | 33,7 a | R |
| CNPH - 1260 | 28,3 c | 41,6 b | S |
| CNPH - 416 | 29,3 c | 44,3 b | S |
| CNPH - 1439 | 29,9 c | 27,7 a | R |
| CNPH - 1046 | 29,9 c | 27,3 a | R |
| CNPH - 1039 | 29,9 c | 27,3 a | R |
| CNPH - 717 | 30,0 c | 25,0 a | R |
| CNPH - 427 | 30,0 c | 25,0 a | R |
| CNPH - 424 | 30,2 c | 21,0 a | R |
| CNPH - 1120 | 30,2 c | 22,3 a | R |
| CNPH - 538 | 30,3 c | 25,0 a | R |
| CNPH - 698 | 30,3 c | 19,3 a | R |
| CNPH - 525 | 30,4 c | 21,0 a | R |
| CNPH - 1034 | 30,4 c | 17,0 a | R |
| CNPH - 421 | 30,6 c | 15,3 a | R |
| CNPH - 1035 | 30,6 c | 21,0 a | R |
| CNPH - 437 | 30,6 c | 19,3 a | R |
| CNPH - 428 | 30,9 c | 2,7 a | R |
| Média | 25,65 | 35,82 | |
| CV (%) | 11,27 | 30,73 | |

R = resistente; S = suscetível

Tabela 1.6. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert. 93 (*Verticillium dahliae* raça 2)

| Genótipo | PI | ID | Reação |
|-----------------|-----------|-----------|---------------|
| CNPH - 417 | 18,3 a | 52,3 b | S |
| CNPH - 419 | 19,7 a | 41,7 b | S |
| CNPH - 1112 | 20,3 a | 50,0 b | S |
| CNPH - 1498 | 21,3 b | 50,0 b | S |
| CNPH - 785 | 22,0 b | 50,0 b | S |
| CNPH - 878 (PD) | 22,0 b | 41,3 b | S |
| CNPH - 010 (FD) | 22,0 b | 44,3 b | S |
| CNPH - 1453 | 22,3 b | 50,0 b | S |
| CNPH - 798 | 23,7 c | 41,7 b | S |
| CNPH - 1038 | 23,7 c | 41,7 b | S |
| CNPH - 602 | 23,7 c | 44,0 b | S |
| CNPH - 797 | 24,0 c | 44,7 b | S |
| CNPH - 1440 | 24,0 c | 50,0 b | S |
| CNPH - 416 | 24,3 c | 50,7 | S |
| CNPH - 784 | 24,3 c | 46,0 b | S |
| CNPH - 783 | 25,3 c | 43,3 b | S |
| CNPH - 1439 | 26,0 d | 27,7 a | R |
| CNPH - 427 | 26,3 d | 35,7 b | S |
| CNPH - 1039 | 26,3 d | 23,0 a | R |
| CNPH - 781 | 27,0 d | 58,3 b | S |
| CNPH - 1123 | 27,3 d | 38,0 b | S |
| CNPH - 1277 | 27,7 d | 35,3 b | S |
| CNPH - 1048 | 28,0 d | 29,0 a | R |
| CNPH - 1249 | 28,3 d | 50,0 b | S |
| CNPH - 1122 | 29,6 e | 37,7 b | S |
| CNPH - 457 | 29,7 e | 35,3 b | S |
| CNPH - 424 | 29,9 e | 29,0 a | R |
| CNPH - 525 | 29,9 e | 31,3 a | R |
| CNPH - 439 | 29,9 e | 27,0 a | R |
| CNPH - 1046 | 29,9 e | 26,3 a | R |
| CNPH - 1035 | 30,0 e | 25,0 a | R |
| CNPH - 1260 | 30,2 e | 20,7 a | R |
| CNPH - 431 | 30,5 e | 12,7 a | R |
| CNPH - 1034 | 30,6 e | 19,0 a | R |
| CNPH - 428 | 30,7 e | 21,0 a | R |
| CNPH - 421 | 30,7 e | 12,7 a | R |
| CNPH - 538 | 30,7 e | 21,0 a | R |
| CNPH - 1120 | 30,8 e | 12,7 a | R |
| CNPH - 717 | 30,8 e | 18,7 a | R |
| CNPH - 698 | 30,8 e | 19,3 a | R |
| CNPH - 437 | 30,9 e | 8,3 a | R |
| Média | 26,34 | 34,94 | |
| CV (%) | 6,95 | 26,34 | |

R = resistente; S = suscetível

Tabela 1.7. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado Vert. 94 (*Verticillium dahliae* raça 1)

| Genótipo | PI | ID | Reação |
|-----------------|-----------|-----------|---------------|
| CNPH - 878 (PD) | 25,0 a | 50,0 d | S |
| CNPH - 1277 | 29,7 b | 37,6 c | BR |
| CNPH - 1048 | 29,7 b | 35,0 c | BR |
| CNPH - 525 | 29,7 b | 32,7 c | BR |
| CNPH - 783 | 29,7 b | 30,3 b | R |
| CNPH - 1439 | 29,7 b | 35,0 c | BR |
| CNPH - 421 | 29,8 b | 37,7 c | BR |
| CNPH - 424 | 29,8 b | 31,3 b | R |
| CNPH - 1039 | 29,9 b | 30,3 b | R |
| CNPH - 781 | 29,9 b | 30,3 b | R |
| CNPH - 1122 | 29,9 b | 25,3 b | R |
| CNPH - 419 | 30,0 c | 36,3 c | BR |
| CNPH - 1249 | 30,0 c | 50,0 d | S |
| CNPH - 1123 | 30,0 c | 48,0 d | S |
| CNPH - 457 | 30,0 c | 50,0 d | S |
| CNPH - 798 | 30,0 c | 31,0 b | R |
| CNPH - 785 | 30,0 c | 41,7 c | BR |
| CNPH - 602 | 30,0 c | 50,0 d | S |
| CNPH - 1035 | 30,0 c | 50,0 d | S |
| CNPH - 1034 | 30,0 c | 50,0 d | S |
| CNPH - 417 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 1112 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 698 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 538 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 416 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 797 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 784 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 010 (FD) | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 1453 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 1440 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 427 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 1046 | 30,0 c | 25,0 b | R |
| CNPH - 439 | 30,2 c | 23,0 b | R |
| CNPH - 428 | 30,5 d | 16,6 b | R |
| CNPH - 717 | 30,5 d | 12,0 a | AR |
| CNPH - 437 | 30,8 d | 8,3 a | AR |
| CNPH - 1260 | 30,9 d | 5,7 a | AR |
| CNPH - 1038 | 30,9 d | 6,0 a | AR |
| CNPH - 1498 | 30,9 d | 2,6 a | AR |
| CNPH - 1120 | 30,9 d | 2,0 a | AR |
| CNPH - 431 | 30,9 d | 4,33 a | AR |
| Média | 30,16 | 28,93 | |
| CV (%) | 1,24 | 31,24 | |

AR = altamente resistente; R = resistente; BR = baixa resistência; S = suscetível

Tabela 1.8. Coeficientes de correlação entre período de incubação (PI), e índice de doença (ID) em acessos de tomateiro inoculadas com isolados de *Verticillium dahliae*.

| Isolado | Correlação PI x ID | Significância |
|----------------|---------------------------|----------------------|
| Vert 02 | -0,69 | ** |
| Vert 12 | -0,62 | ** |
| Vert 63 | -0,79 | ** |
| Vert 93 | -0,77 | ** |
| Vert 94 | -0,48 | ** |

**significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,05$)

CAPÍTULO 2

Identificação de acessos do gênero *Solanum* (secção *Lycopersicon*) com resistência às espécies causadoras da mancha-de-estenfílio do tomateiro (*Stemphylium solani* e *S. lycopersici*)

RESUMO

A mancha-de-estenfílio do tomateiro, causada pelas espécies *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*, foi considerada por muito tempo uma doença secundária devido à utilização combinada de fungicidas e cultivares resistentes. Entretanto, recentes relatos de severas epidemias nas várias regiões produtoras sugerem: (1) falta de interesse e/ou prioridade das empresas de sementes em desenvolver cultivares resistentes e (2) erros de diagnose destes patógenos resultando na adoção de estratégias ineficientes de controle químico da doença. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação de acessos comerciais e silvestres de tomateiro [*Solanum* (Secção *Lycopersicon*)] frente a dois isolados de *Stemphylium*. Na primeira etapa do trabalho, os isolados 'EH-1740' (*S. solani*) e 'EH-1749' (*S. lycopersici*) foram cultivados em meio líquido BD (batata-dextrose), triturados através de um homogenizador, depositados em meio V8 + rifampicina e mantidos em câmara de luz negra por 3 a 4 dias, para esporulação. A concentração dos esporos foi ajustada para 10^4 conídios/mL. Na primeira etapa do ensaio, 109 acessos de tomateiro do banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças foram semeados em bandejas de poliestireno com 128 células contendo substrato, sendo as mudas transplantadas 15 dias após a semeadura e mantidas em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas 15 a 18 dias após o transplante por atomização e avaliadas 15 dias após a inoculação. Cinquenta e sete acessos considerados promissores foram avaliados novamente com os mesmos isolados em uma segunda etapa. A cada dois dias, a reação dos acessos aos isolados foi avaliada utilizando como critérios o período de incubação e a severidade da doença através de uma escala de notas de 0 a 5. Com os valores de severidade, nas diferentes leituras, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença. Com os valores de severidade da última leitura, foi calculado o índice da doença. Foram identificadas fontes de resistência promissoras em acessos das espécies *S.*

lycopersicum, *S. habrochaites*, *S. peruvianum* e *S. pimpinellifolium*. Os acessos de *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* avaliados provavelmente possuem o gene de resistência *Sm*. No entanto, os acessos de *S. peruvianum* e *S. habrochaites* podem portar novos genes/alelos que conferem resistência às duas espécies fúngicas. A diversidade de fatores de resistência para *Stemphylium* pode ser útil para programas de melhoramento genético do tomateiro bem como para o manejo integrado da doença.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*, *Stemphylium*, resistência genética

ABSTRACT

Gray leaf spot of tomato, caused by *Stemphylium solani* and *S. lycopersici*, has been considered a secondary disease in Brazil due to the use of cultivars with genetic resistance combined with fungicide sprays. However, recent reports of severe epidemics in the various regions of Brazil suggest that seed-producing companies are not focusing on the introduction of the resistance gene *Sm* into their elite lines. In addition, there may be many cases of misidentification of the pathogen and consequently the implementation of inadequate chemical control strategy. The present study aimed to evaluate commercial and wild accessions of tomatoes [*Solanum* (Section *Lycopersicon*)] to distinct *Stemphylium* isolates. In the first stage of work, the isolates 'EH-1740' (*S. solani*) and 'EH-1749' (*S. lycopersici*) were grown in liquid medium PD (potato-dextrose), crushed by a homogenizer, placed in V8 + rifampicin medium and kept in light-dark chamber for 3 to 4 days for sporulation. The spore suspensions were adjusted to 10^4 conidia/mL. One hundred-nine tomato accessions of the Embrapa Vegetables germplasm bank of were sown in polystyrene trays with 128 cells containing substrate, and the seedlings transplanted 15 days after sowing and kept in a greenhouse. Plants were inoculated 15 to 18 days after transplanting by spraying and

evaluated 15 days after inoculation. Fifty-seven promising accessions were reevaluated with the same isolates in the second stage. Every 2 days, the reaction of genotypes to the pathogen was assessed through the incubation period, the severity of gray leaf spot through a scale and disease index, based on the values of final severity. Promising sources of resistance were identified in accessions of *S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. peruvianum* and *S. pimpinellifolium*. The *S. pimpinellifolium* and *S. lycopersicum* accessions probably have the resistance gene *Sm*. However, *S. habrochaites* and *S. peruvianum* might be potential new sources of gene/alleles that confer resistance to both fungi. This diversity of *Stemphylium* resistance genes might be useful for tomato breeding programs and integrated management of the disease.

Keywords: *Solanum lycopersicum*; *Solanum* spp.; *Stemphylium*, genetic resistance.

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das principais hortaliças do mundo em termos de área de plantio, consumo e de importância sócio-econômica, sendo o Brasil um dos principais produtores (FAO – ONU, 2005; Filgueira, 2005). A cultura é atacada por doenças de diferentes etiologias, sendo que os fungos e pseudofungos são responsáveis por mais de 90% delas. Entre as doenças fúngicas, tem se destacado, nos últimos anos, mancha foliar cinza ou mancha-de-estenfílio (Reis & Boiteux, 2006a; 2006b). Diferentes espécies do gênero *Stemphylium* (*sensu* Wiltshire, 1938; Simmons, 1967; 1969) têm sido relatadas causando doença em tomateiro em diferentes regiões do mundo incluindo *S. solani* (Weber, 1930); *S. lycopersici* (Ellis & Gibson 1975b); *S. floridanum* (Hannon & Weber, 1955) e *S. botryosum* (Rotem *et al.*, 1966). No entanto, as principais espécies predominantes no Brasil e no mundo

são *S. solani* (Weber, 1930; Ellis & Gibson 1975; Blancard & Laterrot, 1986) e *S. lycopersici* (Ellis & Gibson 1975b; Blancard & Laterrot, 1986; Reis *et al.*, 2006).

A mancha-de-estenfílio é uma doença que ocorre em praticamente todas as regiões onde se cultiva o tomateiro. Afeta a cultura em diferentes estádios de desenvolvimento e os sintomas podem ser observados nos cotilédones de plântulas ainda na fase de sementeira, assim como durante os demais estádios de desenvolvimento da cultura, sendo mais intensos no início da colheita. Frutos e flores não apresentam sintomas. Pode haver disseminação de propágulos dos patógenos por mudas doentes ou insetos, mas o vento é o principal meio de disseminação (Azevedo, 2003; Reis & Boiteux, 2006a). Os patógenos podem sobreviver em restos de cultura no solo, em plantas de crescimento espontâneo (“soqueiras” ou “tigüeras”) bem como em mudas velhas abandonadas em viveiros. Além disso, diversas espécies comerciais e silvestres têm sido identificadas como hospedeiras alternativas dos fungos causadores da mancha-de-estenfílio, podendo, desta forma, servir como fontes semi-perenes de inóculo para o tomateiro (Boiteux *et al.*, 1993; Reis & Boiteux, 2006a; 2006c).

A mancha-de-estenfílio do tomateiro tinha se tornado uma doença de pouca importância nos últimos anos devido ao uso de cultivares resistentes e às aplicações periódicas de fungicidas para controle do complexo de doenças foliares que afetam o tomateiro (Azevedo, 2003; Kurozawa & Pavan, 2005; Lopes *et al.*, 2005). Epidemias severas do patógeno foram verificadas recentemente nas principais regiões produtoras de tomate do Brasil (Reis & Boiteux, 2006a). O ressurgimento de uma doença secundária nas regiões produtoras sugere duas situações: (1) falta de interesse e/ou prioridade das empresas de sementes em desenvolver cultivares com o gene de resistência *Sm* (Behare *et al.*, 1991) e (2) potenciais erros de diagnose de *S. solani* e *S. lycopersici* com agentes causais da doença, resultando na adoção de estratégias inadequadas de controle químico. De fato, respostas de extrema suscetibilidade têm sido observadas na maioria dos híbridos comerciais atualmente

cultivados no Brasil. Um recente levantamento foi conduzido com 50 cultivares de tomate cuja informação sobre genes/fatores de resistência encontrava-se disponível em catálogos de empresas de sementes atuando no Brasil (Reis & Boiteux 2006a). Os resultados indicaram que apenas 16 cultivares (32%) foram identificadas como sendo “resistentes” à doença. Entre as suscetíveis, encontram-se muitas cultivares líderes de mercado (Reis & Boiteux, 2006a).

Diferentes espécies do gênero *Solanum* (seção *Lycopersicon*) têm sido utilizadas em programas de melhoramento genético do tomateiro visando à incorporação de genes que conferem resistência a pragas e doenças. Genes maiores dominantes controlam resistência de pelo menos doze doenças que potencialmente limitam a produção da cultura (Giordano *et al.*, 2003). As características monogênicas e dominantes desses genes facilitam o desenvolvimento de híbridos F1 com resistência a doenças. Acessos selvagens de tomateiro podem ser resistentes à mancha-de-estenfílio, provavelmente também possuindo o gene *Sm* ou alguma variante alélica deste gene (Maluf, 1985; Giordano *et al.*, 2003; Reis & Boiteux, 2006b).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar acessos cultivados e selvagens de tomateiro, disponíveis no banco de germoplasma do Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças (CNPq - EMBRAPA), quanto à reação à mancha-de-estenfílio e identificar genótipos com altos níveis de resistência a isolados de *S. solani* e *S. lycopersici*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

(a) Produção de inóculo de *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*

A produção de inóculo seguiu o protocolo proposto por Rodrigues (2005), com modificações. Um isolado de *S. solani* ('EH-1740', isolado de tomate e proveniente de Eirunepé - AM) e outro de *S. lycopersici* ('EH-1749', isolado de tomate e proveniente de São

Jerônimo - RS) foram cultivados em meio V8 + rifampicina (antibiótico) até o crescimento abundante de micélio. Retirou-se um disco de 1 mm de cada isolado e colocou-se em um Erlenmeyer contendo 100 mL do meio líquido batata-dextrose (BD). Após isto, os Erlenmeyer foram deixados em agitador por sete dias a 25°C, no escuro. Em seguida o meio, contendo abundante quantidade de micélio (de coloração escura), foi homogeneizado através de um triturador Ace Homogenizer® (Nissei) até se obter uma solução homogênea. Verteu-se esta solução de micélio triturado em placas de Petri contendo meio V8 + rifampicina. Em seguida, as placas foram deixadas abertas e colocadas em BOD sob 12 horas de escuro e 12 horas de luz negra à temperatura de 25°C, para formação de esporos. Após três a quatro dias, removeram-se os esporos (conídios) em água estéril, filtrou-se a suspensão em gaze dupla e ajustou-se a concentração do inoculo através de hemacitômetro para 10⁴ conídios/mL.

(b) Inoculação e avaliação de acessos de tomateiro aos isolados de *Stemphylium*

A seleção de acessos resistentes seguiu o protocolo proposto por Santos (1999), com modificações. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília (DF). Na primeira etapa do ensaio, 109 acessos de tomateiro do banco de germoplasma da Embrapa Hortaliças foram avaliados quanto à resistência aos dois isolados de *Stemphylium* (tabela 2.1). Os acessos utilizados como padrões foram as cultivares de tomateiro ‘Ponderosa’ (suscetível) e ‘Floradade’ (resistente devido a presença do gene *Sm*). As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno, contendo substrato para produção de hortaliças (Plantmax®). As mudas foram transplantadas aos 15 a 18 dias após a semeadura para vasos de 1,5 L contendo solo esterilizado.

A inoculação foi feita após uma semana do transplantio, no estágio de dois a três pares de folhas verdadeiras. As plantas foram pulverizadas com a suspensão dos isolados preparados anteriormente, até o escorrimento. Em seguida, as plantas foram mantidas em

câmara úmida por 24 horas. Após a retirada da câmara úmida, as plantas foram mantidas em casa de vegetação (18 – 35 °C). O delineamento foi inteiramente casualizado com 109 genótipos (tratamentos), dois vasos e quatro plantas cada. Aos 15 dias após a inoculação, os acessos foram avaliados com base na presença de manchas foliares típicas da doença em toda a planta. Os acessos suscetíveis apresentavam manchas circulares, grandes (de coloração marrom-escuro). Em alguns casos, estas lesões coalesceram e destruíram toda a lâmina foliar. Os acessos resistentes apresentavam folhas completamente isentas de sintomas (resistência do tipo imunidade), ou algumas vezes pequenas manchas de 1 mm com pontuações necróticas no centro da mancha, similar a reações do tipo hipersensibilidade.

(c) Segunda etapa de avaliação de materiais potencialmente resistentes a *Stemphylium solani* e *S. lycopersici*

Um segundo experimento foi conduzido para confirmar a resistência dos acessos selecionados inicialmente e verificar se a resistência aos isolados de diferentes espécies de *Stemphylium* era do tipo imunidade ou qualitativa. Para isso, foram quantificados os seguintes parâmetros epidemiológicos: período de incubação (PI), definido como o período entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas (Van der Plank, 1963), área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (Fry, 1978) e a severidade final. Foram selecionados 57 acessos que apresentaram maior resistência no primeiro ensaio. Estes acessos foram reavaliados quanto à reação aos mesmos isolados de *Stemphylium*. A produção de mudas dos acessos, produção de inóculo e inoculação seguiram a mesma metodologia descrita anteriormente. O delineamento foi inteiramente casualizado com 59 genótipos (57 genótipos + ‘Ponderosa’ e ‘Floradade’), três vasos com quatro plantas cada.

A severidade da doença foi avaliada a partir do surgimento dos sintomas (PI) em ‘Ponderosa’, a cada dois dias, durante quatorze dias, num total de sete avaliações. A reação

dos acessos, em cada avaliação, foi mensurada através da escala proposta por Boff *et al.* (1991), que consta de 2%, 4%, 8%, 16% e 32% da área foliar lesionada, nos folíolos inoculados. A partir destes dados foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para cada um dos acessos avaliados no segundo ensaio. A AACPD foi calculada utilizando a seguinte expressão (Fry, 1978): $AACPD = \sum (y_i + y_{i+1})/2 \cdot d_{i_i}$, onde y_i e y_{i+1} são os valores da severidade observados em duas avaliações consecutivas e d_{i_i} o intervalo entre as avaliações (em dias). A severidade final foi avaliada através da adaptação da escala acima, em que: 0 = folhas sem sintomas; 1 = até 4% da área foliar lesionada; 2 = de 4,1 a 8% da área foliar lesionada; 3 = de 8,1 a 16% da área foliar lesionada; 4 = de 16,1 a 32% da área foliar lesionada e 5 = área foliar lesionada acima de 32% (Kurozawa & Mussi, 1995). Com base nestes valores, foi calculado o índice da doença (ID), através da fórmula de McKinney, onde $ID (\%) = 100.S[(f.v)/(n.x)]$; sendo f - número de plantas com a mesma nota; v - nota observada; n - número total de plantas avaliadas e x - nota máxima da escala (Dalbosco *et al.*, 2002). Os genótipos que não demonstravam sintomas da mancha-de-estênfilio tiveram o PI ajustados para 15 dias, correspondendo ao período de avaliação total (14) mais um dia, conforme proposto por Iamsupasit *et al.* (1993). Os dados de PI, AACPD e ID foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de agrupamentos de médias Scott-Knott através do programa de análises estatísticas SisVar ver. 4.2 (Ferreira, 2003). O teste de correlação (1 % de probabilidade) para os parâmetros epidemiológicos testados foi feito através do programa ASSISTAT (Silva & Azevedo, 2002).

3. RESULTADOS

Entre os acessos avaliados para resistência aos isolados de *S. solani* e *S. lycopersici*, 45,9% apresentaram-se como suscetíveis, 2,7% apresentaram-se como intermediários, 1,9%

apresentaram-se como resistentes a um isolado e 49,5% demonstraram resistência aos dois isolados (Figura 2.1). A maioria dos acessos avaliados para os dois patógenos apresentou a mesma reação a ambos, ou seja, foram resistentes tanto ao isolado de *S. solani* como ao de *S. lycopersici*. Foram encontrados dois acessos que apresentaram resistência a apenas uma espécie do patógeno, que, no entanto, não confirmaram esta reação no segundo ensaio. Foi verificada, em alguns acessos, a presença de plantas suscetíveis e resistentes no mesmo vaso, sendo a reação considerada como intermediária ou segregante (tabela 2.1). Foram identificados acessos resistentes nas espécies *S. lycopersicum*, *S. habrochaites*, *S. chilense*, *S. pimpinellifolium* e *S. peruvianum* (tabela 2.1). Os acessos de *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* que foram resistentes, provavelmente possuem o gene de resistência *Sm*. No entanto, os acessos de *S. peruvianum*, *S. chilense* e *S. habrochaites* podem portar novos genes/alelos que conferem resistência às duas espécies fúngicas. Nos acessos de *S. pimpinellifolium* testados foram encontrados alguns resistentes e outros suscetíveis. Os genótipos padrões ‘Floradade’ e ‘Ponderosa’ apresentaram resistência e suscetibilidade, respectivamente (Tabela 2.1).

Os valores de PI, AACPD e do ID para os acessos inoculados com os isolados ‘EH-1740’ e ‘EH-1749’ encontram-se nas tabelas 2.2 e 2.3. Entre os acessos avaliados na seleção definitiva, ‘CNPH-0878’ e ‘CNPH-0782’ apresentaram menor PI para todos os isolados inoculados. Frente ao isolado ‘EH-1740’, valores maiores foram observados em genótipos como ‘CNPH-0010’ e ‘CNPH-0928’ e menores em ‘CNPH-1011’ e ‘CNPH-1277’. Frente ao isolado ‘EH-1749’, os maiores valores foram observados em genótipos como ‘CNPH-0417’ e ‘CNPH-0427’, e menores em ‘CNPH-1277’ e ‘CNPH-1445’. A diferenciação dos acessos de acordo com o PI foi significativa pelo teste de Scott-Knott (5% de probabilidade). Nesta etapa

do trabalho não foi observada reação intermediária ao patógeno em nenhum dos acessos testados.

A análise de variância foi significativa para a AACPD e o teste de separação de médias Scott-Knott (5%), permitiu uma alta diferenciação dos acessos. O padrão de suscetibilidade ('Ponderosa') esteve entre os acessos que apresentaram maior AACPD. Frente ao isolado 'EH-1740', valores maiores de AACPD foram observados nos acessos 'CNPH-0374' e 'CNPH-0781' e inferiores em 'CNPH-0928' e 'CNPH-0981'. Frente ao isolado 'EH-1749', observou-se valores superiores em 'CNPH-0782' e 'CNPH-0935' e inferiores em 'CNPH-0969' e 'CNPH-0784'.

O teste de Scott-Knott (5%) também permitiu diferenciação dos acessos de *Solanum* spp para o ID. Os maiores valores de ID frente ao isolado 'EH-1740' foram observados nos genótipos 'CNPH-0374' e 'CNPH-0781', e os menores em 'CNPH-1467' e 'CNPH-1561'. Para o isolado 'EH-1749', os maiores valores foram observados em 'CNPH-0782' e 'CNPH-0935' e os menores nos genótipos 'CNPH-0417' e 'CNPH-0427'. Para a confirmação da virulência dos isolados, as cultivares de tomate 'Ponderosa' ('CNPH-0878') e 'Floradade' ('CNPH-0010') apresentaram, respectivamente, suscetibilidade e resistência a todos os isolados do patógeno.

Foram constatadas correlações significativas ($P \leq 0,01$) entre todos os componentes epidemiológicos avaliados. Entre o PI comparado ao ID e à AACPD a correlação ficou em torno de 60% a 80% e foi negativa. Entre o ID e a AACPD ela foi muito alta (de 96 a 98%) e positiva (tabelas 2.4 e 2.5).

4. DISCUSSÃO

A alta percentagem de acessos resistentes para isolados das duas espécies de *Stemphylium* observada no primeiro ensaio é explicada pelo grande número de acessos, que são ou já foram comerciais, da espécie *S. lycopersicum*. Muitos destes acessos foram colocados a disposição do mercado após trabalho de melhoramento, especialmente para resistência a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raça 2 (gene *I-2*) que está ligado com o gene *Sm* no cromossomo 11 (Laterrot, 1976; Behare *et al.*, 1991). Desta forma, acredita-se que a maioria das cultivares comerciais resistentes à murcha-de-fusário devem também possuir o gene *Sm*. É interessante notar que, apesar de *S. pimpinellifolium* ser a fonte original do gene *Sm* (Hendrix *et al.*, 1946; Hendrix & Frazier, 1949), vários acessos desta espécie foram identificados como suscetíveis aos dois patógenos, confirmando observações feitas anteriormente por Reis & Boiteux (2006b). Um dos fatores que contribuíram para a resistência em alguns acessos da espécie *S. lycopersicum* (ex. ‘CNPH-1012’, ‘CNPH-1013’, ‘CNPH-1014’ e ‘CNPH-1020’) deve-se ao fato de que eles são derivados de cruzamentos com ‘IPA-5’, cultivar que possui resistência estável a estes patógenos devido à presença do gene *Sm* (Laterrot & Blancard, 1983), sugerindo a transferência desta resistência genética para estes acessos. Um grande número de acessos resistentes também foi identificado dentro das espécies *S. habrochaites* e *S. peruvianum*. Muitos destes acessos, principalmente das espécies *S. habrochaites* e *S. peruvianum*, ainda não haviam sido relatados como resistentes a *Stemphylium* spp. Estes acessos podem representar novas fontes de resistência a estes patógenos, podendo ser utilizadas como fontes de novos genes ou distintos alelos do gene *Sm*.

A grande vantagem da utilização combinada da análise de variância e do teste Scott-Knott é a facilidade de interpretação, ausência de ambigüidade resultando em dados com maior objetividade e clareza (Borges & Ferreira, 2003). No geral, acessos que apresentaram

um período de incubação (PI) maior deveriam ser classificados resistentes e aqueles com um período menor deveriam ser classificados como suscetíveis. Entretanto, alguns acessos que demonstraram um PI menor apresentaram índice de doença baixo. Em experimentos conduzidos por Pelletier & Fry (1989), observou-se que cultivares de batata resistentes ao fungo *Alternaria solani* também apresentaram PI significativamente menores que os apresentados em cultivares suscetíveis. Apesar disto, em vários patossistemas, o PI é considerado como um componente importante para a avaliação de resistência de plantas em condições controladas (Andrade, 1999; Dalla Pria *et al.*, 2003; Pedrosa *et al.*, 2004). Outra possível razão é que estes acessos podem ter apresentado uma reação hipersensibilidade e não de suscetibilidade. De fato, Bentes & Matsuoka (2005), através de técnicas de microscopia eletrônica, verificaram que folhas da cultivar de tomateiro ‘Montelle’ (resistente ao patógeno) apresentavam o colapso de algumas células 48 horas após a inoculação com *S. solani*, resultando em lesões pequenas que em nada afetavam o desenvolvimento normal da planta. A presença de resistência horizontal, poligênica ou quantitativa (Agrios, 2005) pode estar associada com os menores níveis de severidade e/ou diferentes níveis de resistência observados entre os acessos avaliados.

Alguns acessos apresentaram níveis elevados de suscetibilidade na primeira etapa de avaliação do germoplasma de *Solanum* (Secção *Lycopersicon*). Entretanto, estes não foram avaliados de maneira mais refinada (i.e. utilizando-se a escala de notas), uma vez que o objetivo deste ensaio foi avaliar, em escala, a reação às espécies de *Stemphylium* no maior número possível de acessos. Na etapa seguinte, os acessos mais promissores (que apresentaram níveis elevados de resistência) foram avaliados novamente e de maneira mais criteriosa, ou seja, através de uma escala de notas, utilizando-se um maior número de repetições e mais variáveis.

Pelos resultados da AACPD obtidos quanto à resistência a mancha-de-estenfílio neste trabalho, os acessos que apresentaram os menores valores despontam como as principais fontes de resistência ao patógeno. Os acessos que apresentaram suscetibilidade a apenas uma espécie na etapa inicial de avaliação (ex. CNPH-0800'), mostraram-se como sendo suscetíveis aos dois isolados na segunda etapa de avaliação. O acesso 'CNPH-1123', que demonstrou resistência aos dois patógenos no primeiro experimento também foi suscetível na seleção final. Estes resultados indicam que a resistência apresentada inicialmente deveu-se a escapes. Experimentos realizados por Reis & Boiteux (2006b), utilizando este mesmo acesso, também indicaram suscetibilidade ao patógeno. Observou-se correlação significativa entre ID e AACPD para ambos os isolados testados, e de média a alta correlação de PI com ID e AACPD. Ou seja, quanto maior o PI, menores serão os valores dos outros dois parâmetros. Levando em consideração o que foi discutido acima sobre o PI e os resultados do teste de correlação, os parâmetros que melhor discriminaram os acessos quanto à resistência foram a AACPD e o ID. Estes podem ser utilizado individualmente ou em conjunto nos trabalhos de seleção de genótipos de tomate para resistência à *Stemphylium* spp.

A ocorrência de plantas suscetíveis e resistentes em um mesmo acesso (especialmente em acessos de *S. lycopersicum*) sugere a segregação do material, ou também o efeito de genes modificadores que podem estar interferindo na expressão do gene *Sm*, ou então devido a cruzamentos naturais (embora raros), o que pode ter causado a contaminação na produção de sementes, como relatado por Kurozawa & Mussi (1995). O motivo mais provável pode ser a mistura de sementes no seu armazenamento. No entanto, no caso de acessos de espécies alógamas com mecanismos de autoincompatibilidade (ex. *S. peruvianum*), a presença de segregação dentro do acesso pode indicar variabilidade natural do acesso para fatores de resistência aos patógenos.

Acessos que foram resistentes na primeira etapa de avaliação, mas que na seleção segunda etapa foram classificados como suscetíveis comprovam a necessidade da repetição do experimento para a confirmação da resistência expressa pelos mesmos, pelo menos em condições controladas. Segundo Mello (1995), a avaliação de acessos sob várias condições ambientais, favoráveis e desfavoráveis ao desenvolvimento da doença é de grande importância, para confirmar se a resistência é expressa de maneira estável. De acordo com Paula & Oliveira (2003), é necessária também a avaliação para resistência em diversas localidades e com diferentes intensidades da doença para a confirmação desta característica.

Avaliações de acessos de tomateiro e outras espécies cultivadas quanto à resistência a doenças são realizados preferencialmente com cultivares e/ou variedades comerciais, devido à ausência de características indesejadas, presentes em acessos de espécies selvagens. Entretanto, a resistência identificada em vários acessos de tomateiro selvagens inoculados com os isolados de *Stemphylium* utilizados neste trabalho ainda não era conhecida. Estes dados confirmam os resultados obtidos por Reis & Boiteux (2006b), que também encontraram novas fontes de resistência a estes dois patógenos. De acordo com estes autores, é necessária a caracterização genética da resistência destes acessos para confirmar a presença de novos genes de resistência ou de novos alelos do gene *Sm*.

Diferentes fatores de resistência poderiam ser inclusive “piramidados” em cultivares comerciais de tomate e/ou servir de genes alternativos no caso de surgimentos de isolados capazes de quebrar a resistência controlada pelo gene *Sm*. Entretanto, tal ‘quebra’ ainda não ocorreu desde que o gene de resistência foi inserido em genótipos comerciais, na década de 1950 (Scott, 1999), indicando a alta estabilidade desta resistência. A durabilidade da resistência conferida pelo gene *Sm* pode também estar sendo favorecida pela aplicação de fungicidas recomendados para outras doenças do tomateiro, que podem também controlar as

espécies de *Stemphylium* (Kurozawa & Mussi, 1995) e eventualmente eliminar dos campos de produção isolados virulentos a este gene de resistência.

Todos os acessos classificados como resistentes às duas espécies de *Stemphylium* apresentaram, na seleção definitiva, índices de doença e AACPD nulos (valores = zero) e PI longos. A existência de diversidade genética para resistência em *Solanum* (Secção *Lycopersicon*) a diferentes espécies de *Stemphylium* é de extremo interesse para os programas de melhoramento genético, especialmente no caso de quebra da resistência por novas raças (ou patótipos) destes patógenos. Desta forma, os resultados obtidos no presente estudo fornecem informações úteis sobre novas promissoras fontes (comerciais e selvagens) de resistência aos dois patógenos, que podem ser úteis para programas de melhoramento e para o manejo integrado da mancha-de-estenfilio do tomateiro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 5^a ed. Burlington: Elsevier. 2005.

ANDRADE, D. E. G. T. Murcha-de-fusário do tomateiro: levantamento da intensidade, amostragem, arranjo espacial, variabilidade de isolados de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e seleção de cultivares resistentes. Dissertação (Mestrado). Recife: UFRPE. 99p.1999.

AZEVEDO, L. A. S. Danos ocasionados por fungos e as estratégias de controle. FEAGRI/UNICAMP. Disponível em www.feagri.unicamp.br/tomates/pdfs/danfungos.pdf. Acesso em maio de 2008.

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

BENTES, J. L. S. & MATSUOKA, K. Histologia da interação *Stemphylium solani* e tomateiro. *Fitopatologia Brasileira* 30: 224-231. 2005.

BLANCARD, D. & LATERROT, H. Les *Stemphylium* rencontrés sur le tomate. *Phytopathologia Mediterranea*, 25: 140-144, 1986.

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

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

BORGES, L. C. & FERREIRA, D. F. Poder e taxas de erro tipo I dos testes Scott-Knott, Tukey e Student-Newman-Keuls sob distribuições normal e não normais dos resíduos. *Revista de Matemática e Estatística* 21: 67-83. 2003.

DALLA PRIA, M.; AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, A. Quantificação de componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 28: 401-407. 2003.

DALBOSCO, M.; SCHONS, J. & PRESTES, A. M. Incidência e índice de doença do mosaico do trigo em cereais de inverno e em gramíneas de verão, associados ao *Polymyxa graminis*. Fitopatologia Brasileira 27: 48-52. 2002.

ELLIS M. B. & GIBSON, I. A. S. *Stemphylium lycopersici*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 471. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England. 2pp 1975a.

ELLIS M. B. & GIBSON, I. A. S. *Stemphylium solani*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 472. Commonwealth Mycological Institute, Ferry Lane, Kew, Surrey, England. 2pp. 1975b.

HANNON, C. I. & WEBER, G. F. A leaf spot of tomato caused by *Stemphylium floridanum* sp. nov. Phytopathology 45: 11-16, 1955.

FAO – ONU. Disponível em www.fao.org. Acesso em outubro de 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar versão 4.2. DEX/UFLA. 2003.

FILGUEIRA, F. A. R. Solanáceas II. Tomate: a hortaliça cosmopolita. In: Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna para a produção de hortaliças. 2ª edição revista e ampliada. Viçosa: Ed. UFV. p. 193-238. 2005.

FRY, W. E. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. Phytopathology 68: 1650-1655. 1978.

GIORDANO, L. B.; ARAGÃO, F. A. S. & BOITEUX, L. S. Melhoramento genético do tomateiro. Informe Agropecuário 24 (219): 43-57. 2003.

HENDRIX, J. W. & FRAZIER, W. A. Studies on the inheritance of *Stemphylium* resistance in tomatoes. Honolulu: University of Hawaii, 1949 (Technical Bulletin, 8).

HENDRIX, J. W.; KIKUTA, K. & FRAZIER, W. A. Breeding tomatoes for resistance to grey leaf spot in Hawaii. Proceedings of the American Society for Horticultural Sciences, Alexandria: v.46, p.294-300. 1946.

IAMSUPASIT, N.; CHAKRABORTY, S.; CAMERON, D.F. & ADKINS, S.W. Components of quantitative resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in tetraploid accessions of the pasture legume *Stylosanthes hamata*. Australian Journal of Experimental Agriculture 33: 855-860. 1993.

KUROZAWA, C. & MUSSI, L. Avaliação de cultivares e híbridos de tomateiro à mancha-de-estenfílio. Summa Phytopathologica 21: 199-201. 1995.

KUROZAWA, C. & PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. Manual de Fitopatologia vol II: Doenças de plantas cultivadas. p.690-719. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 607-626. 2005.

LATERROT, H. Localisation chromosomique de *I2* chez la tomate controlant la resistance au pathotype 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Annales d'Amelioration des Plantes 26: 485-491, 1976.

LATERROT, H. & BLANCARD, D. Criblage d'une série de lignées et d'hybrides F1 de tomate pour la résistance à la stemphyliose. Phytopathologia Mediterranea 22: 188-193. 1983.

LOPES, C.A., REIS, A. & BOITEUX, L. S. Doenças fúngicas. In: ÁVILA, A. C & LOPES, C.A. Doenças do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortaliças. 2005.

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

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

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

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

PEDROSA, R. A., MAFFIA, L. A., MIZUBUTI, E. S. G. & BROMMONSCHENKEL, S. H. Componentes de resistência em cebola a *Colletotrichum gloeosporioides*. Fitopatologia Brasileira 29:606-613. 2004.

PELLETIER, J. R. & FRY, W. E. Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: incubation period, lesion expansion rate, and spore production. *Phytopathology* 79: 511-517.1989.

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

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

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

RODRIGUES, T. T. M. S. Esporulação *in vitro* de *Alternaria solani* (Dissertação de mestrado). Viçosa: UFV. 35p. 2005.

ROTEM, J.; COHEN, Y. & WAHL, I. A new tomato foliage disease in Israel caused by *Stemphylium botryosum*. *Canadian Journal of Plant Sciences* 6: 265-270. 1966.

SANTOS, J. R. M. Methodology for screening tomato for *Fusarium* Wilt, *Verticillium* Wilt, Gray Leaf Spot, Early Blight and Septoria Leaf Blight. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES, 1., 1996, Recife. Proceedings. Alexandria: ASHS: IPA. p. 164- 166. 1997.

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

SILVA, F. A. S. & AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais 4: 71-78. 2002.

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

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

SIMMONS, E. G. Perfect states of *Stemphylium*. Mycologia 61: 1-26. 1969.

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

WILTSHIRE, S. P. The original and modern conceptions of *Stemphylium*. Transactions of the British Mycological Society 21: 211-239. 1938.

Tabela 2.1. Reação de acessos de espécies de tomateiro *Solanum* (Secção *Lycopersicum*) a um isolado de *Stemphylium solani* ('EH-1740') e um de *S. lycopersici* ('EH-1749').

| Genótipo | Espécie | Cultivar/acesso | EH - 1740 | EH - 1749 |
|--------------------|-----------------------------|------------------------|------------------|------------------|
| CNPH – 0010 | <i>Solanum lycopersicum</i> | Floradade | R | R |
| CNPH – 0878 | <i>S. lycopersicum</i> | Ponderosa | S | S |
| CNPH – 0101 | <i>S. peruvianum</i> | PI 306811-67-N-4 | R | R |
| CNPH – 0201 | <i>S. peruvianum</i> | LA 444-1 | S | S |
| CNPH – 0374 | <i>S. peruvianum</i> | CMV Selection INRA | I | I |
| CNPH – 0376 | <i>S. lycopersicum</i> | Columbia | R | R |
| CNPH – 0378 | <i>S. lycopersicum</i> | Roza | R | R |
| CNPH – 0382 | <i>S. pimpinellifolium</i> | PI 732293 | S | S |
| CNPH – 0410 | <i>S. chilense</i> | LA 1967 | S | S |
| CNPH – 0416 | <i>S. habrochaites</i> | PI 126445 | S | S |
| CNPH – 0417 | <i>S. habrochaites</i> | PI 126449 | R | R |
| CNPH – 0419 | <i>S. pimpinellifolium</i> | PI 126931 | S | S |
| CNPH – 0420 | <i>S. habrochaites</i> | PI 127826 | S | S |
| CNPH – 0421 | <i>S. habrochaites</i> | PI 127827 | S | S |
| CNPH – 0427 | <i>S. lycopersicum</i> | IRAT-L3 | R | R |
| CNPH – 0431 | <i>S. lycopersicum</i> | Campbell – 28-1 | R | R |
| CNPH – 0437 | <i>S. lycopersicum</i> | LA 1563 | R | R |
| CNPH – 0439 | <i>S. lycopersicum</i> | Ohio 7870 | R | R |
| CNPH – 0457 | <i>S. lycopersicum</i> | Rey de los Tempranos | R | R |
| CNPH – 0508 | <i>S. lycopersicum</i> | NC EBR – 1 | S | S |
| CNPH – 0525 | <i>S. lycopersicum</i> | Silvestre | S | S |
| CNPH – 0538 | <i>S. lycopersicum</i> | (XPH5300)F2 | S | S |
| CNPH – 0610 | <i>S. peruvianum</i> | Desconhecido | S | S |
| CNPH – 0625 | <i>S. lycopersicum</i> | Cornell – 1 | R | R |
| CNPH – 0663 | <i>S. lycopersicum</i> | Morioka #7 | R | R |
| CNPH – 0668 | <i>S. lycopersicum</i> | Kagome 77 F1 | R | R |
| CNPH – 0698 | <i>S. lycopersicum</i> | Ohio 4013 | R | R |
| CNPH – 0707 | <i>S. lycopersicum</i> | Scoduro | R | R |
| CNPH – 0717 | <i>S. lycopersicum</i> | Calmart | R | R |
| CNPH – 0724 | <i>S. lycopersicum</i> | Mobaci | S | S |
| CNPH – 0733 | <i>S. lycopersicum</i> | Floralon | S | S |
| CNPH – 0750 | <i>S. peruvianum</i> | CLN675BC1F2-285-0-21-0 | S | S |
| CNPH – 0781 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6709 | I | I |
| CNPH – 0782 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6708 | R | R |
| CNPH – 0784 | <i>S. peruvianum</i> | CGO6711 | R | R |
| CNPH – 0785 | <i>S. peruvianum</i> | CGO 6712 | R | R |
| CNPH – 0797 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1609 | S | S |
| CNPH – 0800 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2067 | S | R |
| CNPH – 0803 | <i>S. lycopersicum</i> | Todo Royo | R | R |
| CNPH – 0820 | <i>S. lycopersicum</i> | Quartuor F1 | S | S |

| | | | | |
|--------------------|----------------------------|-----------------|---|---|
| CNPH – 0854 | <i>S. lycopersicum</i> | Morioka#22 | R | R |
| CNPH – 0855 | <i>S. lycopersicum</i> | Morioka#21 | S | S |
| CNPH – 0865 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 89 | R | R |
| CNPH – 0866 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 3844 | R | R |
| CNPH – 0871 | <i>S. lycopersicum</i> | Odoriko F1 | R | R |
| CNPH – 0875 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 162 | R | R |
| CNPH – 0876 | <i>S. lycopersicum</i> | LS 3903 | R | R |
| CNPH – 0893 | <i>S. lycopersicum</i> | Grécia#2 | S | S |
| CNPH – 0925 | <i>S. pimpinellifolium</i> | LA 1614 | S | S |
| CNPH – 0927 | <i>S. lycopersicum</i> | LA1425 | S | S |
| CNPH – 0928 | <i>S. habrochaites</i> | WYR 3951 | R | R |
| CNPH – 0931 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1270 | S | S |
| CNPH – 0932 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1333 | S | S |
| CNPH – 0933 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1677 | S | S |
| CNPH – 0934 | <i>S. peruvianum</i> | WYR 2020 | R | R |
| CNPH – 0935 | <i>S. peruvianum</i> | WYR 3957 | R | R |
| CNPH – 0936 | <i>S. peruvianum</i> | WYR 3957 | S | S |
| CNPH – 0937 | <i>S. peruvianum</i> | LA 385 | R | R |
| CNPH – 0940 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1113-3 | R | R |
| CNPH – 0941 | <i>S. peruvianum</i> | ID 8623 | S | S |
| CNPH – 0942 | <i>S. peruvianum</i> | ID 8624 | S | S |
| CNPH – 0943 | <i>S. chilensis</i> | LA 1967 | S | S |
| CNPH – 0944 | <i>S. chmielewskii</i> | LA 1036 | S | S |
| CNPH – 0946 | <i>S. peruvianum</i> | TX 407 | S | S |
| CNPH – 0969 | <i>S. lycopersicum</i> | Cannary Row | R | R |
| CNPH – 0981 | <i>S. peruvianum</i> | LA 462 | R | R |
| CNPH – 1011 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | R | R |
| CNPH – 1012 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | R | R |
| CNPH – 1013 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | R | R |
| CNPH – 1014 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA 5 x PU 8105 | R | R |
| CNPH – 1020 | <i>S. lycopersicum</i> | Mecline | R | R |
| CNPH – 1034 | <i>S. habrochaites</i> | Desconhecido | S | S |
| CNPH – 1035 | <i>S. peruvianum</i> | Desconhecido | S | S |
| CNPH – 1036 | <i>S. lycopersicum</i> | Desconhecido | S | S |
| CNPH – 1037 | <i>S. pimpinellifolium</i> | Desconhecido | S | S |
| CNPH – 1038 | <i>S. pimpinellifolium</i> | Luteum | R | R |
| CNPH – 1039 | <i>S. pimpinellifolium</i> | Desconhecido | S | S |
| CNPH – 1046 | <i>S. lycopersicum</i> | Hawaii 7998 | R | R |
| CNPH – 1092 | <i>S. lycopersicum</i> | Vetmold (Cf2) | S | S |
| CNPH – 1112 | <i>S. habrochaites</i> | Selvagem | R | S |
| CNPH – 1120 | <i>S. lycopersicum</i> | Philipino 2 | S | S |
| CNPH – 1121 | <i>S. habrochaites</i> | L. 03683 | R | R |
| CNPH – 1122 | <i>S. habrochaites</i> | L. 03684 | R | R |
| CNPH – 1123 | <i>S. pimpinellifolium</i> | L. 03707 | R | R |
| CNPH – 1195 | <i>S. pimpinellifolium</i> | CGO 7650 | R | R |

| | | | | |
|--------------------|------------------------|--------------|---|---|
| CNPH – 1238 | <i>S. chilense</i> | LA 1963 | R | R |
| CNPH – 1249 | <i>S. peruvianum</i> | LA 372 | S | S |
| CNPH – 1277 | <i>S. peruvianum</i> | PI 128660 | R | R |
| CNPH – 1289 | <i>S. habrochaites</i> | PI 128650 | S | S |
| CNPH – 1290 | <i>S. habrochaites</i> | PI 126449 | S | S |
| CNPH – 1436 | <i>S. peruvianum</i> | LA 0153 | S | S |
| CNPH – 1438 | <i>S. peruvianum</i> | LA 044 | S | S |
| CNPH – 1439 | <i>S. peruvianum</i> | LA 0454 | S | S |
| CNPH – 1440 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1274 | S | S |
| CNPH – 1445 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1351 | R | R |
| CNPH – 1448 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1365 | S | S |
| CNPH – 1452 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1609 | I | I |
| CNPH – 1453 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1626 | R | R |
| CNPH – 1461 | <i>S. peruvianum</i> | LA 1982 | S | S |
| CNPH – 1463 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2512 | R | R |
| CNPH – 1464 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2157 | R | R |
| CNPH – 1465 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2163 | R | R |
| CNPH – 1467 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2185 | R | R |
| CNPH – 1468 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2328 | S | S |
| CNPH – 1470 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2732 | S | S |
| CNPH – 1471 | <i>S. peruvianum</i> | LA 2744 | S | S |
| CNPH – 1498 | <i>S. peruvianum</i> | PI 114490 | R | R |
| CNPH – 1561 | <i>S. lycopersicum</i> | IRAT-L3 | R | R |
| CNPH – 1563 | <i>S. lycopersicum</i> | VFN – 8 | R | R |
| CNPH – 1602 | <i>S. lycopersicum</i> | IPA – 6 Duro | S | S |

R: resistente

S: suscetível

I: intermediário

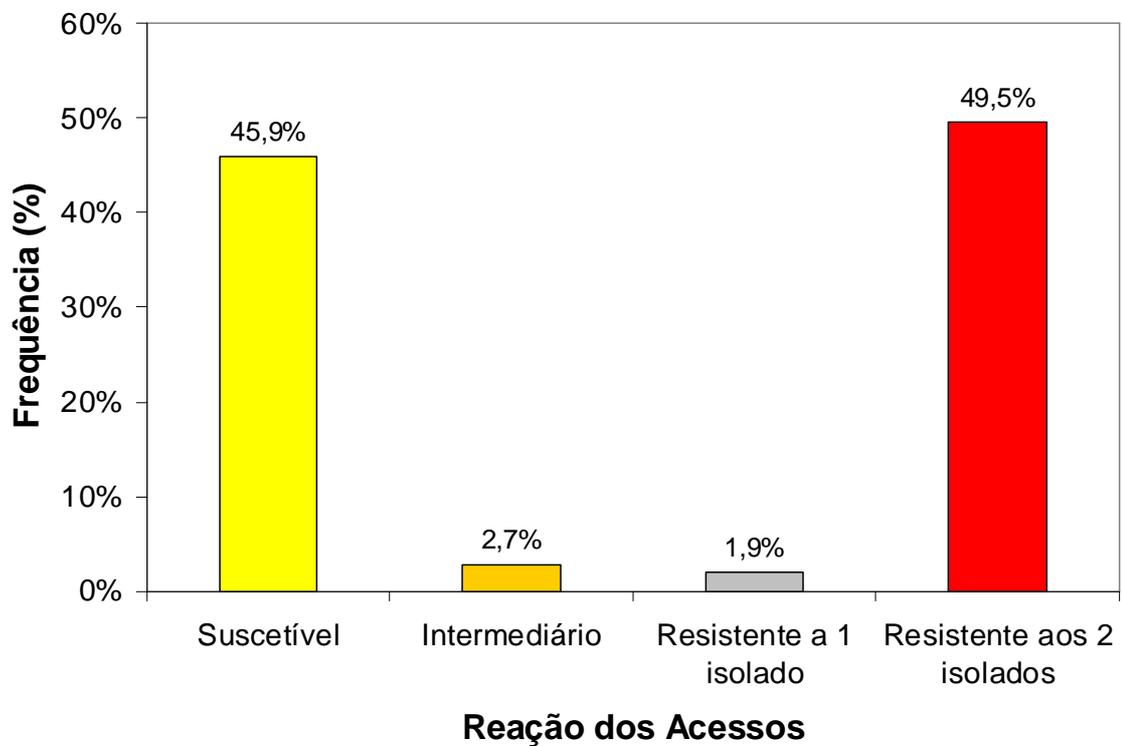


Figura 2.1. Frequência de acessos de *Solanum* spp. (Sec. *Lycopersicon*) resistentes, suscetíveis, intermediários e resistentes a apenas uma espécie de *Stemphylium* (*S. solani* e *S. lycopersici*).

Tabela 2.2. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado EH -1740 de *Stemphylium solani*

| Genótipo | PI | AACPD | ID |
|------------------|-----------|--------------|-----------|
| CNPH 0878 | 3,0 a | 116,0 l | 80,0 f |
| CNPH 0782 | 3,0 a | 25,3 f | 26,7 d |
| CNPH 1011 | 3,6 a | 26,7 f | 20,0 c |
| CNPH 1277 | 3,6 a | 36,0 h | 20,0 c |
| CNPH 1123 | 4,0 a | 22,0 e | 14,0 b |
| CNPH 1238 | 5,0 a | 18,0 d | 20,0 c |
| CNPH 1498 | 6,0 b | 18,0 d | 20,0 c |
| CNPH 0785 | 6,0 b | 10,0 b | 20,0 c |
| CNPH 0800 | 6,0 b | 32,0 g | 20,0 c |
| CNPH 1452 | 6,0 b | 28,0 f | 20,0 c |
| CNPH 1445 | 6,0 b | 52,0 i | 60,0 e |
| CNPH 1046 | 8,0 c | 14,0 c | 20,0 c |
| CNPH 0865 | 8,0 c | 13,3 c | 20,0 c |
| CNPH 0866 | 8,0 c | 16,0 c | 26,7 d |
| CNPH 0374 | 8,0 c | 108,0 k | 80,0 f |
| CNPH 0781 | 8,0 c | 108,0 k | 80,0 f |
| CNPH 0439 | 8,00 c | 56,0 j | 60,0 e |
| CNPH 0928 | 14,0 e | 20,0 b | 20,0 a |
| CNPH 1195 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1012 | 15,0 d | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0981 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0663 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0969 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0668 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0698 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0707 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0717 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0934 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0854 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0871 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0875 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0876 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0940 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0784 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0937 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0803 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0935 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0625 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1122 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1112 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1020 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1463 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1453 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1014 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1013 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0101 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0010 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0427 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0417 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0378 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |

| | | | |
|------------------|--------|-------|-------|
| CNPH 0437 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0431 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0376 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1465 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1464 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1563 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1561 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1467 | 15,0 e | 0,0 a | 0,0 a |
| Média | 12,01 | 12,19 | 11,5 |
| CV (%) | 6,91 | 20,84 | 22,09 |

Tabela 2.3. Reação de genótipos de tomateiro ao isolado ‘EH-1749’ de *Stemphylium lycopersici*

| Genótipo | PI | AACPD | ID |
|------------------|-----------|--------------|-----------|
| CNPH 0782 | 3,0 a | 90,7 h | 100,0 g |
| CNPH 0878 | 3,0 a | 86,7 h | 80,0 f |
| CNPH 1277 | 3,0 a | 68,0 g | 60,0 e |
| CNPH 1445 | 3,0 a | 54,7 e | 60,0 e |
| CNPH 1498 | 3,0 a | 18,0 b | 20,0 c |
| CNPH 0374 | 3,0 a | 33,3 d | 20,0 c |
| CNPH 1011 | 3,0 a | 32,0 d | 20,0 c |
| CNPH 0866 | 3,0 a | 26,6 c | 20,0 c |
| CNPH 1112 | 5,7 b | 20,0 b | 20,0 c |
| CNPH 1238 | 6,0 b | 60,0 f | 60,0 e |
| CNPH 1452 | 6,0 b | 56,0 e | 60,0 e |
| CNPH 1195 | 6,0 b | 20,0 b | 20,0 c |
| CNPH 0935 | 6,0 b | 96,0 i | 80,0 f |
| CNPH 0781 | 6,0 b | 52,0 e | 40,0 d |
| CNPH 1046 | 6,0 b | 14,0 b | 20,0 c |
| CNPH 1123 | 6,7 b | 49,3 e | 40,0 d |
| CNPH 1561 | 8,0 c | 24,0 b | 20,0 c |
| CNPH 0785 | 8,0 c | 28,0 c | 20,0 c |
| CNPH 0865 | 8,0 c | 18,0 b | 20,0 c |
| CNPH 1563 | 12,7 d | 20,0 b | 20,0 c |
| CNPH 0800 | 14,0 e | 2,00 a | 20,0 c |
| CNPH 0969 | 14,7 f | 0,33 a | 6,6 b |
| CNPH 0784 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0707 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0717 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0803 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0854 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0937 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0934 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0981 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0940 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0875 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0871 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0928 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0876 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0698 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1453 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1122 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1463 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1465 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1464 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1020 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0101 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0010 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1012 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1014 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1013 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0439 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0437 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0625 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |

| | | | |
|------------------|--------|-------|-------|
| CNPH 0668 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0663 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0431 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0376 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 1467 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0378 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0427 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| CNPH 0417 | 15,0 f | 0,0 a | 0,0 a |
| Média | 12,0 | 14,9 | 15,4 |
| CV (%) | 4,6 | 22,3 | 3,4 |

Tabela 2.4. Coeficientes de correlação entre período de incubação (PI), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e índice de doença (ID) em acessos de tomateiro inoculadas com o isolado EH – 1740 (*Stemphylium solani*).

| | PI | AACPD | ID |
|-------|----|--------|--------|
| PI | 1 | -0,63* | -0,68* |
| AACPD | | 1 | 0,96* |
| ID | | | 1 |

* significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

Tabela 2.5. Coeficientes de correlação entre período de incubação (PI), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e índice de doença (ID) em acessos de tomateiro inoculadas com o isolado EH – 1749 (*Stemphylium lycopersici*).

| | PI | AACPD | ID |
|-------|----|--------|--------|
| PI | 1 | -0,80* | -0,78* |
| AACPD | | 1 | 0,98* |
| ID | | | 1 |

* significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

ANEXO



Escala diagramática, apresentando proporção da área foliar lesionada pela mancha-de estenfílio, em folíolos de tomateiro com 7 cm^2 da área foliar total. Figura reduzida, com escala 1: 1,6 (Boff *et al.*, 1991).