

CHRISTIANA DE FÁTIMA BRUCE DA SILVA

**CARACTERÍSTICAS CULTURAIS E AGRESSIVIDADE DE
ISOLADOS DE *Alternaria solani* DE BATATEIRA E
TOMATEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586c
2006

Silva, Christiana de Fátima Bruce da, 1980-
Características culturais e agressividade de isolados
de *Alternaria solani* de batateira e tomateiro / Christiana
de Fátima Bruce da Silva. – Viçosa : UFV, 2006.
vii, 58f. : il. ; 29cm.

Orientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 50-58.

1. Pinta-preta. 2. *Alternaria solani*. 3. Fungos fitopato-
gênicos - Fisiologia. 4. Fungos fitopatogênicos - Morfolo-
gia. 5. Epidemiologia. 6. *Solanum lycopersicum*.
7. *Solanum tuberosum*. 8. *Lycopersicon esculentum*.
Universidade Federal de Viçosa. II.Título.

CDD 22.ed. 632.45

CHRISTIANA DE FÁTIMA BRUCE DA SILVA

**CARACTERÍSTICAS CULTURAIS E AGRESSIVIDADE DE
ISOLADOS DE *Alternaria solani* DE BATATEIRA E
TOMATEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de março de 2006

Prof. Robert Weingart Barreto
(Conselheiro)

Prof. Acelino Couto Alfenas

Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues

Dr. Ailton Reis

Prof. Luiz Antonio Maffia
(Presidente da banca)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força nos momentos fáceis e difíceis, no processo de execução deste trabalho.

À minha família, Geraldo, Zuleide, Tatiana e Maira pela compreensão, pelo companheirismo e apoio nos momentos difíceis.

Ao meu companheiro amado, Luís Gustavo, por estar ao meu lado nestes anos importantes da minha vida.

Ao meu querido amigo Sami J. Michereff (UFRPE) por sua amizade e simplesmente por tudo que fez e ainda faz por mim.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade da realização do meu curso de graduação. E a todos amigos de turma, do Departamento de Agronomia e da Área de Fitossanidade, pelos anos de convívio e amizade, que foram tão importantes para mim pessoal e profissionalmente.

Aos meus amigos do laboratório de Epidemiologia de Doenças de plantas (UFV): Antônio Marcos Diniz, Dulcélcio Lana, Marcelo Lélis, André Duarte, Carine Rezende e Pitt Wehr, por terem cooperado comigo, para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do meu curso de mestrado e aos amigos de turma, pelo convívio e amizade durante estes anos.

Ao Prof. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti pela orientação durante este trabalho.

Ao Prof. Luiz Antonio Maffia pelos conselhos e apoio nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao Prof. Robert W. Barreto pelas discussões sempre produtivas e pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho.

Ao Professor Murilo Carvalho pelas valiosas sugestões na redação da deste trabalho.

Aos Professores Acelino C. Alfenas, José Rogério de Oliveira, Reginaldo da Silva Romeiro e Murilo Carvalho por terem permitido usar os equipamentos de seus laboratórios.

Ao Dr. Ailton Reis (EMBRAPA-CNPH) pela disponibilidade de envio de isolados para execução deste trabalho.

Aos funcionários Marcos Rogério, Délio, Dora, Rita, Brás e Jesus, pela amizade e por facilitar o meu trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa concedida durante a realização do curso de Mestrado.

BIOGRAFIA

CHRISTIANA DE FÁTIMA BRUCE DA SILVA, filha de Geraldo Bezerra da Silva e Zuleide Bruce da Silva, nasceu em Brasília – DF no dia 18 de maio de 1980.

Em dezembro de 1998, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, na cidade de Recife – PE, onde se graduou em fevereiro de 2004.

Em março de 2004, iniciou o curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em março de 2006.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1.....	4
CARACTERÍSTICAS CULTURAIS DE ISOLADOS DE <i>Alternaria solani</i> , DE BATATEIRA E TOMATEIRO	4
1. INTRODUÇÃO	4
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
2.1. Obtenção e manutenção dos isolados de <i>Alternaria solani</i>	8
2.2. Caracterização morfológica de conídios	10
2.3. Caracterização da textura e da coloração da colônia e dos pigmentos produzidos por <i>Alternaria solani</i>	13
2.4. Caracterização do crescimento micelial de isolados	14
2.5. Germinação dos conídios de isolados de <i>Alternaria solani</i>	15
2.6. Esporulação de isolados de <i>Alternaria solani</i>	16
3. RESULTADOS.....	17
3.1. Caracterização morfológica de conídios	17
3.2. Caracterização da textura e da coloração da colônia e dos pigmentos produzidos por <i>Alternaria solani</i>	20
3.3. Caracterização do crescimento micelial de isolados	29
3.4. Germinação dos conídios de isolados de <i>Alternaria solani</i>	29
3.5. Esporulação de isolados de <i>Alternaria solani</i>	30
4. DISCUSSÃO.....	32
CAPÍTULO 2.....	36
AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE <i>Alternaria solani</i> DE BATATEIRA E TOMATEIRO	36
1. INTRODUÇÃO	36
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1. Obtenção e manutenção dos isolados de <i>Alternaria solani</i>	39
2.2. Quantificação de componentes epidemiológicos	40
2.2.1. Frequência de infecção	41
2.2.2. Períodos de incubação e latente	42
2.2.3. Tamanho de lesão.....	42
2.3. Análises estatísticas	43
3. RESULTADOS.....	44
3.1. Frequência de infecção	44
3.2. Períodos de incubação e latente	44
3.3. Tamanho de lesão	45
4. DISCUSSÃO.....	47
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

RESUMO

SILVA, Christiana de Fátima Bruce, M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2006. **Características culturais e agressividade de isolados de *Alternaria solani* de batateira e tomateiro.** Orientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti. Conselheiros: Luiz Antonio Maffia e Robert Weingart Barreto.

Foram conduzidos experimentos, em condições de laboratório e casa-de-vegetação, com o objetivo de quantificar possíveis diferenças entre isolados de *A. solani* oriundos de batateira e de tomateiro, quanto às características morfofisiológicas e de agressividade. Nos experimentos morfofisiológicos, quantificaram-se o número de septos transversais e longitudinais, comprimento e a largura do corpo, comprimento e número de bicos, formato e coloração dos conídios; textura e coloração das colônias e o crescimento micelial. Não houve diferenças significativas para as diferentes características morfológicas mensuradas entre os isolados de *A. solani* obtidos de batateira e tomateiro. Conídios de *A. solani* provenientes de isolados obtidos de batateira e tomateiro foram similares, com predominância de conídios de coloração marrom escuro e formato tipo cone longo. A textura das colônias foi tipicamente cotonosa com micélio aéreo de coloração amarelo avermelhado (2.5Y e 10YR) a amarelo esverdeado (7.5Y), com predominância deste último matiz. A ausência de pigmentação foi mais freqüente para os isolados obtidos de tomateiro. Variações foram constatadas quanto ao crescimento micelial de isolados de *A. solani*. Nos dois ensaios realizados, os valores da área abaixo da curva de crescimento (AACC) do grupo de isolados provenientes de batateira foram menores que os valores de AACC dos isolados de tomateiro. Para a germinação de conídios, não houve diferenças entre os valores obtidos para os isolados de tomateiro e batateira. Em um dos dois ensaios realizados, a produção de conídios *in vitro* por isolados oriundos de tomateiro foi maior que a dos isolados de batateira; entretanto, em geral, nenhuma diferença significativa foi detectada. Não foram constatadas variações quanto à agressividade estimada pelos componentes epidemiológicos: freqüência de infecção, períodos de incubação e latente e tamanho de lesão. Não há evidência da existência de populações de *A. solani* com especialização para hospedeiros. As variáveis morfológicas, fisiológicas e patogênicas obtidas neste estudo, sugerem que exista uma espécie homogênea no Brasil: *A. solani*, causando a pinta preta no tomateiro e batateira.

ABSTRACT

SILVA, Christiana de Fátima Bruce, M.S., Universidade Federal de Viçosa, March, 2006. **Cultural characteristics and aggressiveness of isolates of *Alternaria solani* from potato and tomato.** Adviser: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti. Committee Members: Luiz Antonio Maffia and Robert Weingart Barreto.

Several experiments were conducted both under laboratory and greenhouse conditions to quantify putative differences between isolates of *A. solani* obtained from potato and tomato plants. Morphophysiological attributes and aggressiveness components were assessed. The following morphophysiological variables were measured: septation, length, width, shape, and color of conidia; length and number of beaks; colony texture and color; and mycelial growth. There were no significant differences between potato and tomato isolates for any of the morphophysiological variables included in this study. Conidia of isolates from both potato and tomato were dark-brown and long-cone shaped. Colony texture was in general cottony, and aerial mycelium was reddish-yellow (2.5 Y and 10 YR) or, predominantly, greenish-yellow (7.5Y) in color. Lack of pigmentation was more frequently observed for isolates obtained from tomato. There was variation regarding mycelial growth. In both trials, values of the area under the growth curve for the isolates from potato were smaller than those for tomato. There was no difference between conidia germination for tomato and potato isolates. In one of the two trials, the *in vitro* production of conidia for the potato isolates was smaller than that obtained for the tomato isolates; however, in general, no significant differences were detected. No differences regarding aggressiveness, estimated by the epidemiological components: infection frequency, incubation and latent periods, and lesion size were detected between potato and tomato isolates. There was no evidence of host-specific populations of *A. solani*. Morphological, physiological and pathogenic data on variables obtained from this study suggest that there is a homogeneous species of *Alternaria* in Brazil: *A. solani*, causing early blight in the two hosts.

INTRODUÇÃO GERAL

A batata (*Solanum tuberosum* L.) e o tomate (*Solanum lycopersicum* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.) são as principais olerícolas produzidas no Brasil. Apesar de a produção alcançar 3,047 e 3,515 milhões de toneladas para a batata e o tomate, respectivamente (IBGE, 2004), as perdas causadas por doenças limitam a produção e vultosos recursos são empregados no seu controle. Dentre as doenças mais importantes, destaca-se a pinta preta, causada pelo fungo *Alternaria solani* Sorauer, que reduz a produção em plantações de batateira e tomateiro em todo o mundo (Neergaard, 1945; Pscheidt & Stevenson, 1986). Os sintomas da pinta preta podem se manifestar nas folhas, hastes, frutos e tubérculos e são caracterizados pela necrose dos tecidos afetados (Pscheidt & Stevenson, 1986).

Nas condições brasileiras, a resistência das variedades, fatores de ambiente e variabilidade do patógeno fazem com que haja variação na intensidade das epidemias (Boiteux *et al.*, 1995; Castro *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2000). Variações na intensidade da pinta preta podem ser constatadas em comparações realizadas numa espécie hospedeira, plantada sob mesmas condições ambientais. Diferenças genéticas entre indivíduos nas populações de *A. solani* parecem estar mais diretamente associadas a essas variações. Em geral, espécies de *Alternaria* são consideradas como de alta variabilidade para diferentes atributos. No caso específico de *A. solani*, há relatos de variações quanto às características fisiológicas (Bonde, 1927; Bonde, 1929; Henning & Alexander, 1959; Rotem, 1966; Rotem, 1994), morfológicas (Bonde, 1927; Bonde, 1929; Rotem, 1966; Rotem, 1994), patogênicas (Higgins, 1952; Henning & Alexander, 1959; Rotem, 1966; Rotem, 1994) e moleculares (Martínez *et al.*, 2004).

A quantificação da variabilidade de patógenos dentro de suas populações é importante, pois permite inferir sobre o seu potencial evolutivo e suas implicações para as práticas de manejo, como o desenvolvimento de programas de melhoramento (McDonald & Linde, 2002) e o uso estratégico de fungicidas (Milgroom *et al.*, 1986). Na investigação de populações brasileiras de *A. solani*, até o momento, observaram-se diferenças em agressividade entre isolados oriundos de batateira (Fancelli, 1991) e de tomateiro (Fancelli, 1991; Castro *et al.*, 2000). Apesar de não haver relatos de variações morfológicas relevantes entre isolados de *A. solani* obtidos de solanáceas, há evidências de possível especialização a hospedeiros, principalmente entre batateira e tomateiro (Jones & Darling, 1953; Fancelli, 1991). Baseado em diferenças culturais,

patogênicas, sorológicas e/ou eletroforéticas (enzimas da esterase), isolados brasileiros de *A. solani* oriundos de batateira formaram um grupo distinto daqueles oriundos de tomateiro (Bóveda, 1986; Fancelli, 1991; Scheuermann *et al.*, 2004). Fato similar foi observado para isolados de *A. solani* estudados em outros países (Weir *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 2004). Recentemente, relatou-se que a esporulação e as características das colônias dos isolados de batateira são facilmente reconhecidas e diferem das dos isolados de tomateiro (Simmons, 2000). Assim, Simmons (2000) propôs uma nova espécie, *Alternaria tomatophila* Simmons, para as populações que incitam pinta preta em tomateiro. As populações adaptadas a batateira continuariam sendo denominadas de *A. solani*.

Informações sobre as possíveis especializações nas populações de patógenos e o monitoramento de sua agressividade podem ter reflexo em aspectos epidemiológicos e são importantes para o desenvolvimento de estratégias racionais do manejo da doença. Por exemplo, as populações brasileiras de *Phytophthora infestans*, agente causal da requeima do tomateiro e batateira, têm especificidade por hospedeiro (Suassuna *et al.*, 2004), diferem quanto a requerimentos epidemiológicos (Maziero, 2001), ao grupo de compatibilidade sexual e padrões isoenzimáticos (Reis *et al.*, 2003). Para a requeima, observou-se que o manejo diferenciado, em função da combinação população predominante do patógeno-hospedeiro, pode ser implementado. Menor quantidade de fungicidas é necessária para o manejo da doença em tomateiro, em locais onde predominam isolados da linhagem clonal BR-1, menos adaptados a essa hospedeira (Batista *et al.*, 2006). Procedimento semelhante pode ser implementado para a pinta preta. Porém, é necessário determinar o grau de especialização por hospedeiro nas populações de *A. solani*.

Utilizando marcadores moleculares RAPD, dois grupos de isolados de *A. solani* foram constatados, um grupo associado a batateira e outro a tomateiro (Scheuermann *et al.*, 2004). Adicionalmente, com a proposta por Simmons (2000) de adoção da nova espécie associada a tomateiro, torna-se necessário analisar se as populações brasileiras de *Alternaria* patogênicas a estes dois hospedeiros, diferem quanto às características fisiológicas e morfológicas, o que contribuiria para confirmar a validade do taxon *A. tomatophila* e relatar sua ocorrência no Brasil. Todavia, ainda não se investigou detalhadamente esta possibilidade pela análise de diferenças entre populações de *A. solani* quanto às características morfológicas, fisiológicas e patogênicas. O objetivo do presente trabalho foi verificar se isolados de *A. solani* oriundos de batateira diferem ou

não quanto às características morfofisiológicas e componentes epidemiológicos, de isolados oriundos de tomateiro.

CAPÍTULO 1

CARACTERÍSTICAS CULTURAIS DE ISOLADOS DE *Alternaria solani*, DE BATATEIRA E TOMATEIRO

1. INTRODUÇÃO

Quando se estudam fungos, as variações são de ocorrência mais freqüente do que o estado de uniformidade (Lilly & Barnett, 1951). Estas variações podem ser atribuídas às diferenças genéticas entre os isolados utilizados, bem como às condições físicas e nutricionais empregadas (Lilly & Barnett, 1951). Para quantificar variabilidade em fungos, a análise de caracteres morfológicos e fisiológicos é importante, principalmente para as espécies de *Alternaria*, que apresentam variação na morfologia dos seus conídios, nas características culturais e fisiológicas (Neergaard, 1945). Há vários relatos de variação no formato e dimensão de conídios entre isolados de espécies de *Alternaria* (Rotem, 1966; Mortensen & Bergman, 1983; Simmons, 1995; Pryor *et al.*, 2002), inclusive em *Alternaria solani* Sorauer, agente causal da pinta preta do tomateiro e batateira (Rotem, 1966; Rotem, 1994; Bóveda, 1986; Simmons, 2000).

A delimitação taxonômica de espécies de *Alternaria* baseia-se principalmente na morfologia dos conídios. Conídios jovens de *A. solani* são hialinos, geralmente medem 50 X 12 µm, são alongados a ovóides, têm número de septos variável entre 3 a 6. Os conídios maduros geralmente têm comprimento e largura que variam de 90 a 100 X 18 a 24 µm, respectivamente, têm de 10 a 11 septos transversais, de 1 a 2 septos longitudinais. Eles são lisos e tipicamente ovóides e marrons. O bico tem 5-8 µm de largura e 40-80 µm de comprimento, podendo atingir até 150 µm. Os conidióforos de *A. solani* têm, geralmente, 50 X 10 µm de tamanho (comprimento e largura) (Simmons, 2000). Conídios com um único bico afilado predominam na população de *A. solani*, seguido por aqueles que têm dois bicos; raramente ocorrem conídios com três bicos (Simmons, 2000).

Recentemente, Simmons (2000) propôs uma nova espécie, *Alternaria tomatophila* Simmons, para as populações que incitam pinta preta em tomateiro. As populações adaptadas a batateira continuariam sendo denominadas de *A. solani*. Tal proposta está baseada em diferenças nas características da morfologia dos conídios e esporulação (Simmons, 2000). Para os isolados de tomateiro, na espécie proposta *A.*

tomatophila, os conídios jovens são lanceolados e apresentam um único bico. O corpo dos conídios é basicamente ovóide longo, algumas vezes elipsóide. Posteriormente, quando maduros, apresentam as dimensões de 86-122 (comprimento) X 24-30µm (largura), de 8-15 septos transversais e 1-2 longitudinais. Muitos apresentam um único bico longo e filiforme, que começa abruptamente no final do corpo. Esta característica contrasta com a do bico de *A. solani*, que começa gradualmente quando termina o corpo. Ocasionalmente, surgem conídios de *A. tomatophila* com dois bicos (Simmons, 2000).

Espécies de *Alternaria* apresentam grande variação quanto à textura das colônias (Pryor & Michailides, 2002; Ma *et al.*, 2003), o que permite utilizar esta característica cultural em estudos de variabilidade morfológica do patógeno. Apesar de considerada como atributo útil na caracterização de isolados, a classificação de textura de colônias é subjetiva e pode ser afetada pelas condições de crescimento (Pryor & Michailides, 2002). Para *A. solani*, há relatos de colônias de textura frouxa, fina, lisa, aveludada, cotonosa e com micélio submerso, esse último comumente reportado (Bonde, 1929, Henning & Alexander, 1959; Rotem, 1966). Dada a subjetividade da quantificação visual da textura de colônias, faz-se necessário utilizar termos que descrevam mais precisamente as características do micélio. Nobles (1948) propôs uma classificação para caracterizar colônias fúngicas de patógenos de essências florestais. É possível que avaliações com esta escala reduzam a subjetividade e padronize a terminologia, o que facilitaria comparar isolados analisados em diferentes estudos.

Os isolados de *Alternaria* spp. podem diferir, também, quanto à coloração de suas colônias (Mortensen & Bergman, 1983; Pryor & Michailides, 2002; Ma *et al.*, 2003). Comumente, colônias de *Alternaria* spp. têm coloração cinzenta, preta ou com matiz entre ambas. Com menor frequência, observou-se micélio branco, laranja-acinzentado, vermelho ou amarronzado (Henning & Alexander, 1959). Quando armazenadas em BDA, culturas de *A. solani* tiveram variações, como a perda gradual da coloração característica (cinza esverdeado escuro) e a formação de setores com coloração mais clara (Lewis, 1957). Pode também haver variação de coloração de colônias conforme o hospedeiro de origem do isolado. A cor das colônias de isolados de tomateiro variou de verde-azulado, azul-acinzentado a preto, enquanto colônias jovens típicas de isolados de batateira variaram de coloração amarelada (Pound, 1951) a cinzento oliváceo (Padhi & Rath, 1973). Isolados que formam micélio aéreo tiveram pigmentações variadas: oliváceo, cinzento, amarronzado e avermelhado (Rotem,

1966) e, em mutantes, a coloração do micélio variou de verde a verde escuro (Padhi & Rath, 1973).

Características fisiológicas, como o crescimento, *in vitro*, de colônias de *Alternaria* spp. também podem variar entre isolados (Mortensen & Bergman, 1983; Pryor & Michailides, 2002; Ma *et al.*, 2003; Thrall *et al.*, 2005). Para os autores, estas diferenças provavelmente resultam de variações genéticas entre os isolados. Variação no crescimento micelial em isolados de *A. solani* oriundos de batateira é conhecida há muito tempo (Bonde, 1927; Bonde, 1929; Douglas, 1972), inclusive há relatos de sua ocorrência para isolados obtidos no Brasil (Bóveda, 1986). Em outro estudo, foi possível associar a origem do isolado com a taxa de crescimento: os isolados de *A. solani* provenientes de tomateiro formaram um grupo com maior crescimento enquanto os de batateira apresentavam menor crescimento (Fancelli, 1991). Esta diferenciação foi consistentemente observada quando os isolados cresceram a 15, 20 ou 25°C, o que reforça possível efeito de diferenciação genética entre estes isolados.

Isolados de *A. solani* produzem pigmentos que se acumulam em estruturas, como hifas e esporos, e que também podem ser difundidos para o meio de cultura (Bonde, 1927 e 1929). Fatores, como o tipo de meio de cultura, temperatura, pH, luminosidade, umidade e idade das colônias, podem influenciar na produção desses pigmentos (Bonde, 1927; Bonde, 1929). Alguns dos compostos que constituem os pigmentos produzidos por isolados de *A. solani* são: macrosporina, dactilariol (Nishimura, 1983; Pscheidt & Stevenson, 1986) e altersolanol (A –F) (Nishimura *et al.*, 1983; Yagi *et al.*, 1993; Haraguchi *et al.*, 1996). Espécies de *Alternaria*, além de produzirem pigmentos, podem também formar cristais de composição química desconhecida em vários meios de cultura. Eles apresentam forma e tamanho variados e sua produção em alguns isolados foi verificada ser constante, num período de 5 a 6 anos. Dentre as espécies produtoras de cristais, destaca-se *A. solani*, *A. porri* e *A. dauci* (Neergaard, 1945).

Uma característica fisiológica, que tem importância marcante nas etapas iniciais de desenvolvimento do patógeno na planta é a germinação dos conídios. É um processo, juntamente com a penetração, que afeta a adaptabilidade de um isolado. Já se constatou haver variabilidade quanto à germinação de conídios em espécies de *Alternaria* (Michereff *et al.*, 2003), mas os relatos em *A. solani* são escassos (Waggoner & Parlange, 1974). Assim como a germinação, igualmente importante para a infecção: é o processo fisiológico de esporulação. Têm-se observado diferenças

quanto à esporulação, entre colônias de isolados de *A. solani* provenientes de batateira e tomateiro, cultivadas em meio de cultura (Fancelli, 1991).

Os trabalhos de caracterização de isolados brasileiros de *A. solani* são fragmentados. Em alguns estudos foram utilizadas características morfológicas (Bóveda, 1986) enquanto em outras se avaliaram características fisiológicas (Waggoner & Parlange, 1974; Fancelli, 1991; Töfoli *et al.*, 2003). Neste trabalho, avaliaram-se as características morfológicas e fisiológicas de isolados brasileiros de *A. solani*, com o propósito de testar a hipótese de que: isolados oriundos de batateira e de tomateiro não diferem quanto às características morfológicas (morfologia dos conídios e coloração/textura do micélio aéreo) e fisiológicas (crescimento micelial, produção de pigmentos e de cristais, germinação e esporulação dos conídios).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e manutenção dos isolados de *Alternaria solani*

Foram analisados 31 isolados de *A. solani*, 16 de tomateiro e 15 de batateira (Tabela 1), de diferentes áreas de produção dessas solanáceas, localizadas em nove estados das regiões Sul, Sudeste, Centro-oeste e do Distrito Federal. Das amostras coletadas no campo, procedeu-se ao isolamento direto quando havia conídios nas lesões. Para tal, com um estilete, ao microscópio estereoscópico, retiraram-se conídios, que foram depositados em meio BSA (200g batata cozida, 20g de sacarose, 17g de ágar, 1000 mL de água destilada) em placas de Petri. Quando não havia esporulação, procedeu-se ao isolamento das lesões (adaptado de Tuite, 1969). A preservação dos isolados foi feita depositando-se discos contendo as estruturas do patógeno, sobre fragmentos de papel filtro (aproximadamente 1 x 1 cm), previamente esterilizados, dispostos sobre BSA, e mantidos em incubadora sob luz contínua a 25°C. Após o crescimento sobre os fragmentos, as hifas foram retiradas das placas e armazenadas a -80°C em envelopes esterilizados de papel (Rodrigues *et al.*, 2005).

Para obter colônias esporulantes, os fragmentos colonizados de papel filtro foram retirados do *freezer* e transferidos para erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 ml do meio líquido V8 (200 ml/L de suco de vegetais V8[®], 800 ml de água destilada) suplementado com sulfato de estreptomicina (16,66 mg/L) e cloranfenicol (25 mg/L). Os frascos foram mantidos no escuro, sob agitação de 110 rpm, à temperatura ambiente (25 a 28°C). Para os isolados já disponíveis na coleção de *A. solani* do laboratório, discos de micélio, armazenados em água-destilada esterilizada (ADE), foram submetidos ao mesmo procedimento. Após 7 dias, o micélio formado foi triturado em Politron[®] a 4000 rpm, por 1 min. Da suspensão obtida, alíquotas de 10 mL foram vertidas em BSA em placas de Petri, mantidas a seguir sob 6 lâmpadas de luz negra 40W (Sylvania[®]-1,20m de comprimento, distância de 3 cm entre si e a 30 cm de altura em relação as placas) por 60 h, em regime de fotoperíodo de 12 h (Rodrigues *et al.*, 2005).

Após a esporulação, obtiveram-se isolamentos monospóricos. Para tal, adicionaram-se 10 mL de água destilada esterilizada (ADE) a cada placa e as colônias foram raspadas com escova de cerdas macias. Filtrou-se a suspensão em camada dupla

de gaze e se retirou alíquota de 1,0 mL (0,1%), a seguir espalhada em meio ágar-água (17g de ágar, 1000ml de água destilada) em placa de Petri. As placas foram mantidas sob luz contínua a 25°C. Após 12 h, os conídios germinados (microscópio estereoscópico, 80X), foram transferido para BSA suplementado com 100 mg/L de estreptomicina e 100 mg/L de cloranfenicol, em placas de Petri.

Tabela 1 – Isolados de *Alternaria solani* utilizados nos experimentos.

Código	Isolado	Hospedeiro	Procedência	Coletor	Data da coleta
AS1B	AS105	Batateira	Conselheiro Lafayete (MG)	Tatiana Rodrigues	06/2004
AS2B	AS04-003	Batateira	Domingos Martins (ES)	Tatiana Rodrigues	06/2004
AS3T	EH1121	Tomateiro	Alfredo Wagner (SC)	Ailton Reis	03/2005
AS4T	DMP211	Tomateiro	Domingos Martins (ES)	Valdir Lourenço	01/2005
AS5B	MFP101	Batateira	Marechal Floriano (ES)	Valdir Lourenço	01/2005
AS6T	AS04-004	Tomateiro	Viçosa (MG)	Tatiana Rodrigues	06/2004
AS7T	EH1142	Tomateiro	Pelotas (RS)	Ailton Reis	05/2005
AS8B	AS04-005	Batateira	Bueno Brandão (MG)	Tatiana Rodrigues	06/2004
AS9T	SP120	Tomateiro	Sumidouro (RJ)	Valdir Lourenço	02/2005
AS10B	EH1184	Batateiro	São Francisco de Paula (RS)	Ailton Reis	04/2005
AS11B	A6	Batateiro	Araxá (MG)	Marcelo Lélis	01/2005
AS12B	A48	Batateiro	Ibiá (MG)	Marcelo Lélis	01/2005
AS13T	5PT1	Tomateiro	Ibiúna (SP)	Valdir Lourenço	01/2005
AS14T	EH1174	Tomateiro	Araucária (PR)	Ailton Reis	04/2005
AS15B	EH1178	Batateira	Contenda (PR)	Ailton Reis	04/2005
AS16T	AS124	Tomateiro	Timbó (SC)	Daniel Schurt	01/2005
AS17T	AS32	Tomateiro	Vassouras (RJ)	Ailton Reis	06/2000
AS18T	RePL	Tomateiro	Ressaquinha (MG)	Valdir Lourenço	03/2005
AS19T	EH1122	Tomateiro	L. Régis (SC)	Ailton Reis	03/2005
AS20T	AS54	Tomateiro	Marília (SP)	não informado	não informado
AS21T	EH1208	Tomateiro	Colombo (PR)	Ailton Reis	04/2005
AS22T	VnP0203	Tomateiro	V. Nova do Imigrante (ES)	Valdir Lourenço	01/2005
AS23T	PLPIP0201	Tomateiro	Brasília (DF)	Valdir Lourenço	07/2005
AS24T	EH1175	Tomateiro	Caxias do Sul (RS)	Ailton Reis	04/2005
AS25B	AS06	Batateira	S. Mateus do Sul (PR)	Ailton Reis	04/2000
AS26B	AS14	Batateira	Poços de Caldas (MG)	Ailton Reis	07/2000
AS27B	AS08	Batateira	Ponta Grossa (PR- Bocaina)	Ailton Reis	04/2000
AS28B	AS09	Batateira	Ponta Grossa (PR- Sta Maria)	Ailton Reis	04/2000
AS29B	AS50	Batateira	Teixeiras (MG)	José M. N. Maziero	07/2000
AS30B	CriPi08	Batateira	Cristalina (GO)	Valdir Lourenço	07/2005
AS31B	EH1182	Batateira	Contenda (PR)	Ailton Reis	04/2005

2.2. Caracterização morfológica de conídios

Foram utilizados os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro: AS3T, AS4T, AS7T, AS9T, AS18T e AS20T e os obtidos de batateira: AS1B, AS2B, AS5B, AS10B, AS12B e AS28B. Culturas destes isolados foram induzidas a esporular conforme metodologia descrita no item 2.1. As culturas esporulantes foram raspadas com estilete e os conídios montados em lâminas, para observação ao microscópio de luz.

As análises morfométricas dos conídios foram realizadas em microscópio de luz com micrômetro ocular (Figura 1), objetiva 40X. De no mínimo 40 conídios por lâmina, quantificaram-se: o número de septos transversais e longitudinais; os comprimentos do corpo e do bico; número de bicos; a largura do conídio; o formato e a coloração dos conídios (Rotem, 1966).

Para avaliar a coloração dos conídios, foi utilizada escala de cores adaptada de Neergaard (1945) e Ellis (1971), com base nas cores mais freqüentemente observadas em conídios de espécies de *Alternaria*. A escala utilizada é composta das cores subhialina, amarela, castanha e marrom-escura.

Na avaliação do formato dos conídios, foi utilizada a escala adaptada de Neergaard (1945), para *A. tenuis* (Figura 2):

1. Formato esfera: a proporção entre o comprimento e a largura do conídio é de 1:1;
2. Formato de cone curto: a proporção entre o comprimento e a largura do conídio é de 2:1;
3. Formato cone longo: a proporção entre o comprimento e a largura do conídio varia de 3:1 a 4:1;
4. Formato cilíndrico: a proporção entre o comprimento e a largura do conídio varia de 5:1 a 7:1.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Foram utilizadas três repetições por isolado, sendo cada repetição constituída por três lâminas, obtidas da mesma safra de produção de conídios. Para as variáveis quantitativas, realizou-se análise de variância e calcularam-se as médias dos grupos de isolados, isto é, média dos isolados de tomateiro versus a média dos isolados de batateira, que foram comparadas por análise de contraste.

Para as variáveis qualitativas, de cada repetição (40 conídios), estimou-se a frequência de conídios em cada uma das categorias de cor ou de formato e determinou-se a característica predominante (de maior frequência) no conjunto de conídios avaliados. Empregou-se o teste de independência exato de Fisher (Snedecor & Cochran, 1989).

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa The SAS System versão 8.0.

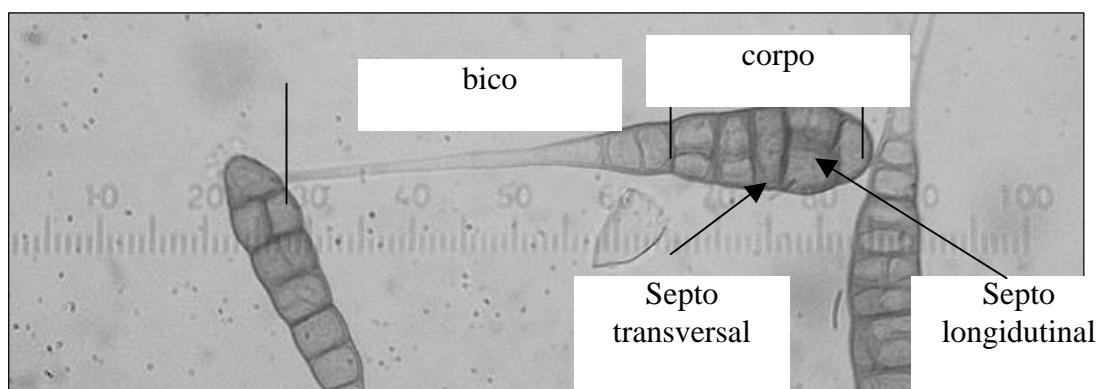


Figura 1 - Estruturas de conídios de *Alternaria solani* normalmente mensuradas para estudos taxonômicos.

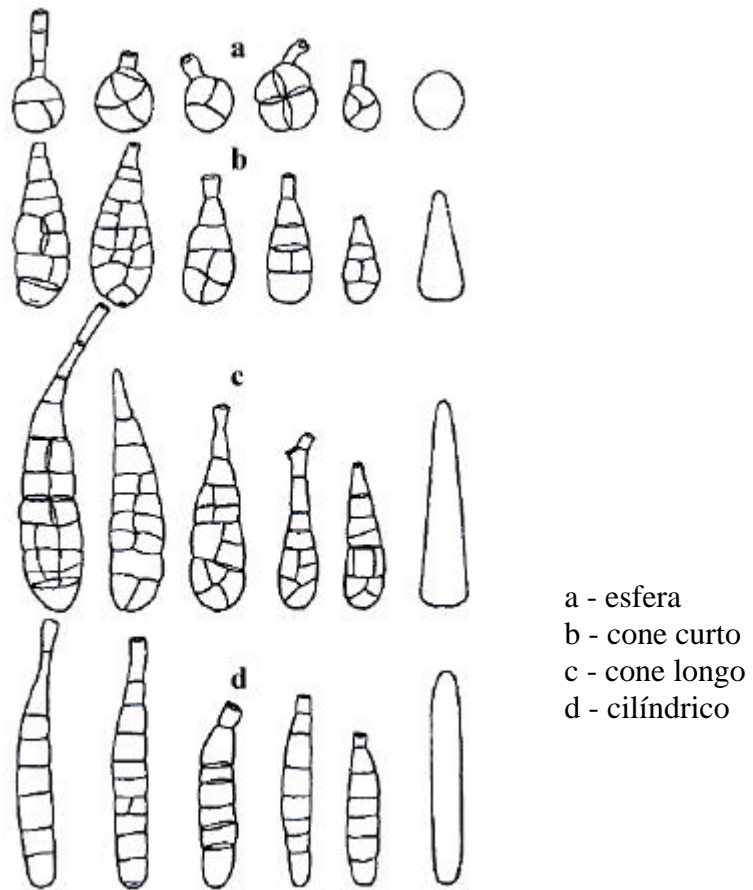


Figura 2 - Escala utilizada para a quantificação do formato dos conídios de *Alternaria solani* (adaptada de Neergaard, 1945).

2.3. Caracterização da textura e da coloração da colônia e dos pigmentos produzidos por *Alternaria solani*

Colônias de isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro e batateira (Tabela 1) foram avaliadas quanto à textura, coloração e produção de pigmentos. As colônias foram obtidas de fragmentos de micélio preservados a -80°C sob a forma de papel filtro colonizado com o patógeno, conforme descrito no item 2.1. Cada fragmento foi depositado em meio BSA em placas de Petri, mantidas a 25°C. Após 6 dias sob luz contínua, efetuaram-se as avaliações.

As colônias foram inspecionadas visualmente e a textura foi classificada conforme as categorias propostas (adaptada de Nobles, 1948):

1. Camurça: textura de camurça fina e lisa;
2. Cotonosa: micélio ereto, predominantemente mais longo (3 a 5mm) disseminado por todas as direções;
3. Crostosa: micélio em crosta, geralmente de coloração escura;
4. Felpuda: hifas finas e curtas disseminadas pela superfície do micélio;
5. Farinácea: micélio com aspecto pulverulento;
6. Feltrosa: micélio com hifas entrelaçadas;
7. Flocosa: colônias com micélio curto;
8. Lacunosa: micélio coberto de depressões ou falhas;
9. Plumosa: colônias com tufo de micélios;
10. Sedosa: cordões miceliais longos e paralelos;
11. Aveludada: camada de micélio densa, reta, hifas curtas;
12. Crespa: densa massa de micélio;
13. Lanosa: semelhante a uma lã.

Para a avaliação da coloração do micélio, foi utilizada a escala de Munsell (Munsell, 1957). A escala é composta de três variáveis: o matiz, o valor e o croma. O matiz é a gama de cor do espectro solar. É representado por um número e uma ou duas letras. Os números representam a gradação cromática, enquanto que as letras são abreviaturas da gama de cores em inglês. Já o valor traduz a tonalidade mais clara ou mais escura da cor. Resulta das proporções variáveis de preto e de branco, combinados com o matiz. O valor vai do zero (preto absoluto) a dez (branco absoluto). Enquanto que, o croma, representa a pureza da cor e traduz a saturação ou intensidade do colorido. O croma varia do zero (ausência de matiz) a vinte (cor espectral pura) (Oliveira *et al.*, 1992).

Foram determinados o matiz de cores, o valor e o croma do micélio aéreo e do reverso da colônia de cada isolado de *A. solani*. Adicionalmente, caracterizaram-se os pigmentos de *A. solani* difundidos no meio de cultura, com a escala. Determinaram-se o matiz, valor e croma da coloração dos pigmentos produzidos. A produção de cristais foi avaliada observando a presença ou ausência destas nas colônias.

Todos os experimentos que envolveram avaliação de cor foram realizados com e sem a escala de Munsell (Munsell, 1957). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri. O experimento foi repetido duas vezes. Foi realizada análise estatística descritiva, verificando a frequência de atributos de cada isolado em uma determinada categoria. Posteriormente, os dados foram submetidos às análises de independência com o teste de chi-quadrado ou exato de Fisher, conforme descrito no item 2.2.

2.4. Caracterização do crescimento micelial de isolados

Colônias de cada isolado listado no item 2.3. foram cultivadas em meio de cultura, conforme descrito no item 2.1., mantidas a 25°C, sob luz contínua. Diariamente, foi mensurado o diâmetro de cada colônia, nos dois sentidos perpendiculares, até que o micélio de qualquer das colônias atingisse a borda da placa (Nakasone *et al.*, 1999). Como houve variação quanto ao padrão de crescimento dos isolados, padronizou-se o período de crescimento, do 2º ao 6º dia de crescimento, a fim de permitir a estimativa da área abaixo da curva de crescimento (AACC).

Para a obtenção da AACC, os valores de diâmetro da colônia foram plotados em função do tempo e a área foi calculada por integração trapezoidal (Shaner & Finney, 1977). Obteve-se um valor de AACC, para cada experimento, isolado e repetição. Os dados de AACC foram submetidos à análise de variância e as médias do grupo de isolados de batateira e de tomateiro foram comparadas por análise de contraste.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições. Cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri. O experimento foi repetido duas vezes.

2.5. Germinação dos conídios de isolados de *Alternaria solani*

Para avaliar germinação de conídios, gotas de 50 µL da suspensão de esporos de cada isolado (AS1B, AS2B, AS3T, AS4T, AS5B, AS6T, AS7T, AS8B, AS9T, AS10B, AS11B, AS12B, AS13T, AS14T, AS15B e AS16T) foram depositadas em lâmina de microscopia, mantidas em câmara úmida a 25°C. Após 24 h, foram contados, ao microscópio de luz (400X), o número de conídios germinados.

Considerou-se como germinado o conídio com tubo(s) germinativo(s) com comprimento pelo menos uma vez maior que a largura do esporo. Todos os conídios presentes em lâmina foram observados e avaliados para determinar a porcentagem de germinação. Todos os dados foram submetidos à análise de variância e as comparações, definidas a priori, entre médias de grupos de isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro e batateira foram realizadas por análise de contraste. As pressuposições para análise de variância foram avaliadas com base em teste de normalidade dos erros e padrão de gráficos de resíduos. Os dados foram transformados para raiz quadrada e os ensaios foram analisados separadamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Cada unidade experimental foi constituída por uma lâmina.

2.6. Esporulação de isolados de *Alternaria solani*

O número total de conídios produzidos por isolado de *A. solani* em meio BSA foi quantificado. Para tal, da suspensão de cada isolado descrito no item 2.5., retirou-se alíquota de 10 μ L, depositou-se em lâmina de microscopia, e procedeu-se à contagem dos conídios presentes ao microscópio de luz (100X). O número de conídios foi determinado em cinco alíquotas (repetições) por isolado.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e as comparações, definidas a priori, entre médias de grupos de isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro e batateira foram realizadas por análise de contraste. As pressuposições para análise de variância foram avaliadas com base em teste de normalidade dos erros e padrão de gráficos de resíduos. Os dados de esporulação foram transformados para logaritmo decimal, e os dois ensaios foram analisados em conjunto.

O experimento foi repetido duas vezes em delineamento inteiramente casualizado. Cada unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri.

3. RESULTADOS

3.1. Caracterização morfológica de conídios

Houve pouca variação entre isolados quanto às características morfológicas dos conídios (Tabela 2). Não houve diferença entre os isolados obtidos de batateira e tomateiro quanto aos valores médios de todas as variáveis medidas: número de septos transversais ($P = 0,7605$) e longitudinais ($P = 0,8761$); largura ($P = 0,0887$) e comprimento do corpo ($P = 0,9267$) dos conídios e comprimento do bico ($P = 0,5315$).

O número médio de septos transversais variou entre 1 e 26. O número médio de septos longitudinais foi variável (de 0 a 7). Tanto para os isolados oriundos de tomateiro quanto para os de batateira, conídios com apenas um septo longitudinal, foram mais frequentemente observados, 14,1% e 9,3%, respectivamente. Conídios com dois bicos foram observados para os isolados AS01B, AS12B, AS28B, AS7T e AS9T. Para o isolado AS9T, conídios com dois bicos foram observados em todas as repetições. A ausência de bico foi constatada em conídios de um isolado de batateira (AS28B), e nos conídios de uma (01) repetição do isolado AS3T de tomateiro.

Foram avaliados 3541 conídios e três categorias de coloração foram observadas: marrom escuro (72,63%), castanho (20,14%) e amarelo (7,23%). Quando se calcularam as frequências de coloração de conídios, por repetição, o número esperado de indivíduos foi inferior a 5 em 67% das combinações (células) hospedeiro de origem x coloração de conídios. Por essa razão, as categorias de menor frequência (castanho e amarelo) foram agrupadas em uma única categoria denominada “não marrom escuro” para realizar o teste exato de Fisher para a Tabela 2 x 2 (marrom escuro e não marrom escuro x hospedeiros de origem). Não houve diferença quanto à coloração de conídios entre os isolados *A. solani* oriundos de tomateiro e batateira.

Para a variável: formato de conídios, 50,21% dos conídios avaliados tinha formato de cone longo, 27,87% de cone curto, 16,18% de cilíndrico e 5,73% de esfera. Mesmo procedimento descrito para cor de conídios foi adotado para analisar a variável formato. Quando se determinou o formato predominante para cada repetição, apenas 3 categorias foram mais frequentes: cone longo (68,57%), cone curto (22,86%) e cilíndrico (8,57%). Porém, na análise, o número esperado em algumas células foi inferior a 5. As categorias cone curto e cilíndrico foram

agrupadas em uma única categoria denominada “não cone longo” e realizou-se o teste de Fisher para a Tabela 2 x 2. Não houve diferença quanto ao formato de conídios entre isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro e batateira.

Tabela 2 - Características morfológicas de conídios de isolados de *Alternaria solani*, provenientes de tomateiro e batateira (média de três repetições).

Parâmetros	Isolados											
	AS3T	AS4T	AS7T	AS9T	AS18T	AS20T	AS1B	AS2B	AS5B	AS10B	AS12B	AS28B
Septação transversal (número de septos)												
Amplitude	3-18	3-8	3-18	3-26	2-11	3-21	1-19	4-18	4-20	4-15	2-14	2-17
Média	9,8	4,0	8,5	13,6	5,5	11,8	9,7	10,6	12,0	8,1	7,1	7,6
Moda	11	4	8	15	6	10	12	10	12	8	7	6
Septação longitudinal (número de septos)												
Amplitude	0-3	1-5	1-5	1-7	0-2	1-5	1-7	1-4	1-3	1-4	1-5	1-5
Média	1,5	2,0	1,5	2,3	1,1	1,9	2,5	1,3	1,4	1,6	1,4	1,8
Moda	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1
Comprimento do corpo (µm)												
Amplitude	20-132	14-36	22-88	32-176	18-88	30-160	14-150	30-126	26-176	14-82	16-88	12-94
Média	68,4	21,7	47,6	83,8	39,7	65,4	62,8	59,4	61,2	43,5	41,9	44,6
Comprimento do bico (µm)												
Amplitude	0-140	6-28	22-172*	26-310*	10-146	30-288	20-186*	24-190	30-208	30-152	20-196*	0-112*
Média	62,4	16,5	90,6	113,2	59,4	115,6	56,5	84,7	100,1	69,1	57,2	29,8
Largura (µm)												
Amplitude	10-36	6-16	8-22	10-28	6-18	8-26	10-22	10-22	10-26	8-20	10-22	6-22
Média	14,1	9,7	13,3	16,8	12,1	16,7	15,2	14,8	15,9	14,3	15,9	12,3

*Presença de dois bicos

As principais características morfológicas dos conídios de isolados de *A. solani* provenientes de batateira e de tomateiro encontram-se descritas na Tabela 3:

Tabela 3 - Características morfométricas de conídios (3541 conídios avaliados) de *Alternaria solani* oriundos de batateira (n= 6 isolados) ou de tomateiro (n= 6 isolados).

Característica	Isolados de batateira	Isolados de tomateiro
Número de septos transversais (amplitude)	1-22	2-26
Número de septos longitudinais (amplitude)	1-7	0-7
Comprimento do corpo (amplitude)	14-176 µm	14-176 µm
Largura (amplitude)	6-26 µm	6-36 µm
Comprimento do bico (amplitude)	0-208 µm	0-310 µm
Número de bicos (amplitude)	0-2	0-2
Coloração predominante	Marrom-escuro	Marrom-escuro
Formato predominante	Cone longo	Cone longo

3.2. Caracterização da textura e da coloração da colônia e dos pigmentos produzidos por *Alternaria solani*

Sessenta colônias de *A. solani* foram classificadas quanto às características culturais (Tabelas 4 e 5). Para a coloração de micélio aéreo, 3 tonalidades (cinzentas, rosadas e esbranquiçadas) de cores foram atribuídas quando avaliada sem a escala de cores. As tonalidades e suas respectivas frequências nos dois ensaios foram: cinza claro/cinza escuro, periferia ligeiramente rosada (10 e 3,33%), cinza esverdeado a esbranquiçado (0 e 10%), cinza claro/cinza azulado (3,33 e 0%), cinza azulado esbranquiçado (6,67 e 10%), cinza esverdeado claro/esbranquiçado (0 e 3,33%), cinza claro/cinza esverdeado escuro (3,33 e 3,33%), cinza esverdeado (13,33 e 0%), cinza/cinza azulado (3,33 e 0%), cinza azulado escuro com periferia esbranquiçada (0 e 3,33%), cinza esbranquiçado/cinza escuro (3,33 e 0%), cinza esbranquiçado (3,33 e 3,33%), cinza escuro/rosado (6,67 e 0%), cinza esverdeado escuro (0 e 3,33%), cinza esverdeado com periferia rosada (3,33 e 6,67%), cinza esbranquiçado com periferia rosada (6,67 e 0%), cinza esverdeado/branco rosado (0 e 16,67%), cinza esverdeado/cinza amarronzado, regiões rosadas (0 e 3,33%), cinza claro/cinza

esverdeado com porções branco rosadas (0 e 6,67%), cinza esbranquiçado/rosado (6,67 e 0%), cinza com porções rosadas (0 e 6,67%), cinza claro/cinza esverdeado (10 e 0%), cinza esverdeado claro/branco rosado (0 e 3,33%), cinza/cinza esverdeado/esbranquiçado (0 e 3,33%), esbranquiçado rosado (3,33 e 0%); cinza (6,67 e 0%), cinza esverdeado escuro com porções rosadas (0 e 6,67%), cinza escuro/branco rosado (3,33 e 0%), cinza/cinza esverdeado, com periferia rosada (3,33 e 0%) e cinza claro/cinza escuro, com regiões branco rosadas (3,33 e 0%).

Com a escala de cores, três categorias foram observadas para micélio aéreo: amarelo-esverdeado (50%), amarelo-esverdeado-avermelhado (38,33%) e amarelo-avermelhado (11,67%). Para análise, as tonalidades avermelhadas foram agrupadas e comparadas em relação à categoria amarelo-esverdeado. Não houve diferenças entre coloração de micélio aéreo entre colônias de *A. solani* de isolados obtidos de batateira e de tomateiro.

Sem a escala, as tonalidades de cores cinzentas e rosadas foram observadas para o reverso das colônias (Tabelas 4 e 5). As tonalidades e suas respectivas frequências, nos dois ensaios, foram: cinza esverdeado (50 e 66,67%), cinza azulado (10 e 10%), cinza (26,67 e 10%), cinza escuro (6,67 e 0%), cinza esverdeado escuro (0 e 3,33%), cinza esverdeado/cinza amarronzado, regiões rosadas (0 e 3,33%), cinza claro/cinza escuro (3,33 e 0%), cinza claro/cinza esverdeado (0 e 3,33%), cinza/cinza esverdeado (0 e 3,33%) e cinza esverdeado com porções rosadas (3,33 e 0%).

Com a escala de cores, duas categorias foram observadas para o reverso da colônia: amarelo-esverdeado (93,33%) e amarelo-avermelhado (6,67%). As frequências de colônias em uma categoria ou em outra não diferiu em função da origem do isolado.

Para avaliação da pigmentação, sem escala, foram observadas, nos dois ensaios, as tonalidades bege, amarela e rosada, bem como ausência de pigmentação como segue: bege (3,33 e 13,33%), amarelo (20 e 26,67%), amarelo fraco (16,67 e 13,33%), amarelo forte (13,33 e 23,33%), amarelo claro a rosado (3,33 e 0%), amarelo esverdeado (13,33 e 3,33%) e ausente (26,67 e 23,33%). Com a escala, três categorias foram definidas: amarelo-avermelhado (71,67%), ausente (25,00%) e amarelo-esverdeado (3,33%). Para análise, duas categorias foram criadas: pigmentação presente e ausente. A pigmentação ou ausência de pigmentos variou conforme a origem dos isolados ($P < 0,0001$). A maioria (96,67%) das colônias de isolados oriundos de batateira apresentou pigmentos. Apenas uma colônia (isolado

AS2B) não produziu pigmentos. Entre as colônias de isolados obtidos de tomateiro, 16 apresentaram pigmentos e 14 não estavam pigmentadas.

A textura das colônias foi característica bastante variável (Tabelas 4 e 5). Oito categorias foram observadas: cotonosa (56,67%), cotonosa-feltrosa (11,67%), feltrosa-cotonosa (8,33%), feltrosa-flocosa (6,67%), feltrosa (6,67%), lanosa (5,00%), cotonosa-flocosa (3,33%) e lanosa-feltrosa (1,67%). Para análise, somente foram consideradas as categorias cotonosa e não cotonosa (feltrosa, lanosa e suas combinações). Não houve diferença entre colônias de isolados oriundos de batateira ou de tomateiro quanto à textura.

A produção de cristais de coloração vinácea, somente foi verificada em colônias de isolados oriundos de batateira (3,33%, nos dois ensaios).

Outras características observadas em colônias de *A. solani* originárias de isolados de tomateiro: micélio fortemente irradiado (3 isolados), presença de projeções apiculadas (1 isolado) e dendrítico (1 isolado). Para os isolados de batateira observou-se também: micélio fortemente irradiado (2 isolados), dendrítico (1 isolado) e presença de zonação diurna, em maior frequência.

Tabela 4- Características culturais de colônias com 6 dias de idade de isolados de *Alternaria solani* provenientes de tomateiro. Característica, predominante entre as cinco repetições empregadas para a avaliação.

Isolados	E	Cor do micélio aéreo		Cor do reverso da colônia		Pigmentação do meio		Z	Textura
		Sem escala	Com escala de Munsell	Sem escala	Com escala de Munsell	Sem escala	Com escala de Munsell		
AS3T	1	Cinza claro/Cinza escuro, periferia ligeiramente rosada	7.5Y 5.0/7.0 2.0/4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Bege	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado esbranquiçado	7.5Y 6.0/7.0/9.0 4.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Bege	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
AS4T	1	Cinza claro/Cinza azulado	7.5Y 7.0 2.0/4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza azulado	7.5Y 7.0 2.0/4.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa/flocosa
	2	Cinza azulado/esbranquiçado	7.5Y 8.0/9.0 2.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza azulado	7.5Y 8.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Feltrosa/Flocosa
AS6T	1	Cinza azulado/micélio esbranquiçado superficialmente	7.5Y 9.0/7.0 0.0/4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza azulado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa/Feltrosa
	2	Cinza esverdeado claro, periferia esbranquiçada	7.5Y 8.0/9.0 4.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 8.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa/Feltrosa
AS7T	1	Cinza claro/Cinza esverdeado escuro	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo claro intenso	10YR 6.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza claro/ Cinza escuro, porções rosadas	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0/8.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
AS9T	1	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado, periferia esbranquiçadas	7.5Y 7.0/8.0 4.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	+	Cotonosa
AS13T	1	Cinza/Cinza azulado	2.5Y 6.0/7.0 2.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza	2.5Y 7.0 2.0 (Amarelo avermelhado)	Ausente	Ausente	-	Feltosa
	2	Cinza azulado escuro, periferia esbranquiçada	2.5Y 6.0/9.0 2.0/0.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza azulado	2.5y 6.0 2.0 (Amarelo avermelhado)	Ausente	Ausente	-	Feltrosa/Cotonosa

Cont. Tabela 4

AS14T	1	Cinza esbranquiçado/Cinza escuro	7.5Y 4.0/5.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza escuro	7.5Y 4.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Feltrosa/Flocosa
	2	Cinza/ esbranquiçado	2.5Y 6.0/8.0 4.0/0.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza	2.5Y 6.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	Ausente	Ausente	-	Feltrosa/Flocosa
AS16T	1	Rosado/Cinza escuro	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarela	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado escuro	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado escuro	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Bege	2.5Y 9.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	+	Feltrosa/Cotonosa
AS17T	1	Cinza claro/Cinza escuro, periferia rosada	7.5Y 6.0/7.0 2.0/6.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeada	7.5Y 7.0 6.0 (Amarelo esverdeado)	Amarela	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado, periferia rosada	7.5Y/10YR 6.0/7.0/8.0 4.0/3.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
AS18T	1	Cinza escuro/Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo fraco	10YR 8.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	-	Feltrosa
	2	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Bege	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa/Feltrosa
AS19T	1	Cinza a esbranquiçado, periferia rosada	7.5Y/10YR 7.0/8.0 2.0/4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo farco	10YR 8.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado/Branco rosado	7.5Y/2.5Y 6.0/8.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
AS20T	1	Rosado/Cinza escuro	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0 (Amarelo esverdeado, Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarela	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado/cinza amarronzado, regiões rosadas	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0/3.0 (Amarelo esverdeado/ amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado/Cinza amarronzado, regiões rosadas	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	+	Feltrosa/Cotonosa
AS21T	1	Esbranquiçado Acizentado	7.5Y/2.5Y 6.0/9.0 2.0/0.0 (Amarelo esverdeado/amarelo avermelhado)	Cinza azulado	7.5Y 6.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Lanosa/Feltrosa
	2	Cinza azulado, setores esbranquiçados	7.5Y 6.0/9.0 2.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza azulado	7.5Y 6.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Feltrosa/Flocosa

Cont. Tabela 4

AS22T	1	Cinza azulado, periferia esbranquiçada	7.5Y 8.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza	7.5Y 6.0 2.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa
	2	Cinza azulado, periferia esbranquiçada	7.5Y 5.0/9.0 4.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza azulado	7.5Y 5.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa/Feltrosa
AS23T	1	Cinza claro/Cinza escuro, periferia rosada	7.5Y/10YR 6.0/9.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza claro/Cinza escuro	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarela âmbar	10YR 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza claro/Cinza esverdeado/barnco rosado	7.5Y/2.5YR 7.0 6.0/4.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza claro a Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 6.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte a âmbar	2.5YR 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa/Feltrosa
AS24T	1	Acinzentado/Esbranquiçado/Rosado	7.5Y/10YR 7.0/9.0 4.0/2.0/0.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Acinzentado, setores rosados	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa

E – ensaios; Z – zonação diurna; - ausente; + presente

Tabela 5- Características culturais de colônias com 6 dias de idade de isolados de *Alternaria solani* provenientes de batateira. Característica predominante entre as cinco repetições empregadas para a avaliação.

Isolados	E	Cor do micélio aéreo		Cor do reverso da colônia		Pigmentação do meio		Z	Textura
		Sem escala	Com escala de Munsell	Sem escala	Com escala de Munsell	Sem escala	Com escala de Munsell		
AS1B	1	Cinza claro/Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo claro a rosado	10YR 6.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado claro/Branco rosado	2.5Y 8.0 4.0; 10 YR 8.0 3.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	2.5Y 8.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	Amarelo	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
AS2B	1	Cinza claro/ Cinza esverdeado	7.5Y 7.0/8.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0/8.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado)	Ausente	Ausente	-	Cotonosa
	2	Cinza/Cinza esverdeado/esbranquiçado	7.5Y 7.0/9.0 6.0/4.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza/Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 6.0/4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
AS5B	1	Verde acizentado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Verde acizentado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo fraco	2.5Y 8.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado/Porção central branco	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Verde acizentado	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo fraco	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
AS8B	1	Esbranquiçado/Rosado	10YR 7.0/8.0 2.0/3.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza	10YR 7.0 3.0 (Amarelo avermelhado)	Amarelo esverdeado	10YR 8.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado/Esbranquiçado a rosado	7.5Y/10YR 6.0/8.0 4.0/3.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo esverdeado	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Feltrosa
AS10B	1	Cinza	2.5Y 6.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza	2.5Y 6.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	Amarelo fraco	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado escuro, porções branco rosado	7.5Y/10YR 7.0/8.0 6.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 6.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa

Cont. Tabela 5

AS11B	1	Branca a rosado/Cinza escuro	2.5YR 6.0 2.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza escuro	7.5Y 5.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	10YR 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa/Flocosa
	2	Cinza esverdeado/Branco a rosado	7.5Y/10YR 7.0/8.0 6.0/4.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 6.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
AS15B	1	Cinza/Cinza esverdeado, periferia rosada	10YR 9.0 2.0 (Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado/ branco rosado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 8.0 10.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
AS25B	1	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	+	Cotonosa/Feltrosa
	2	Cinza esverdeado escuro a rosado	7.5Y/10YR 6.0/8.0 7.0/4.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 7.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 9.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa/Feltrosa
AS26B	1	Cinza esverdeado/Cinza claro	7.5Y 7.0 4.0/6.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0/6.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	+	Feltrosa/Cotonosa
	2	Cinza esverdeado claro/Cinza esverdeado escuro	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
AS27B	1	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0/9.0 6.0/0.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 6.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 8.0 8.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado claro, setores branco rosados	7.5Y/10YR 7.0/9.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Bege	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
AS28B	1	Cinza esverdeado, periferia rosada	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo esverdeado	10YR 8.0 2.0 (Amarelo avermelhado)	+	Feltrosa
	2	Cinza, periferia rosada	7.5Y/10YR 7.0/9.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo claro	2.5Y 9.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	+	Feltrosa/Cotonosa

Cont. Tabela 5

AS29B	1	Cinza claro/Porção central branco rosado, periferia rosadas	7.5Y/10YR 7.0/8.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado, com setores rosados	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo fraco	10YR 8.0 3.0 (Amarelo avermelhado)	-	Lanosa
	2	Cinza esverdeado, porção central e periferia rosada	7.5Y/10YR 6.0/8.0 4.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo esverdeado	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Lanosa
AS30B	1	Cinza claro/Cinza escuro, com regiões branco rosado	7.5Y/10YR 6.0/7.0/9.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo fraco	2.5Y 9.0 4.0 (Amarelo avermelhado)	-	Lanosa
	2	Cinza esverdeado/ Cinza esverdeado escuro, regiões branco rosadas	7.5Y/10YR 6.0/7.0/9.0 4.0/1.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa
AS31B	1	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Cinza	7.5Y 7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo forte	2.5Y 8.0 10.0 (Amarelo avermelhado)	-	Cotonosa
	2	Cinza esverdeado/esbranquiado rosado	7.5Y/10YR 6.0/7.0/9.0 4.0/2.0 (Amarelo esverdeado/Amarelo avermelhado)	Cinza esverdeado	7.5Y 6.0/7.0 4.0 (Amarelo esverdeado)	Amarelo	2.5Y 9.0 6.0 (Amarelo avermelhado)	+	Cotonosa

E – ensaios; Z – zonação diurna; - ausente; + presente

3.3. Caracterização do crescimento micelial de isolados

Em ambos os ensaios, o valor médio da AACC dos isolados de batateira foi significativamente menor que o valor médio para os isolados de tomateiro ($P = 0,0018$ e $P < 0,0001$, para os ensaios 1 e 2, respectivamente) (Figura 3).

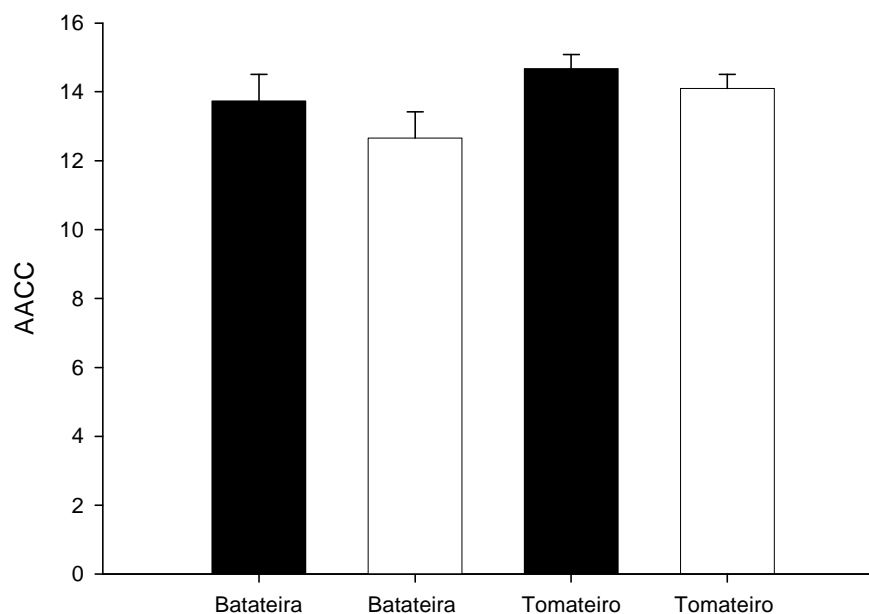


Figura 3- Área abaixo da curva de crescimento (AACC) dos isolados de *Alternaria solani* oriundos de batateira e tomateiro, calculada entre o 2º e 6º dia após a repicagem, no ensaio 1 (barra escura) e 2 (barra clara). As linhas sobre as barras representam o desvio padrão da média.

3.4. Germinação dos conídios de isolados de *Alternaria solani*

No primeiro ensaio de germinação de conídios, os fatores principais (hospedeiro e isolado) e a interação hospedeiro x isolado não foram significativos. O valor médio da germinação de conídios para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira (Figura 4). No segundo ensaio, os fatores principais foram significativos ($P < 0,0001$). Contudo, o valor médio da germinação de conídios para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira ($P = 0,5007$) (Figura 4).

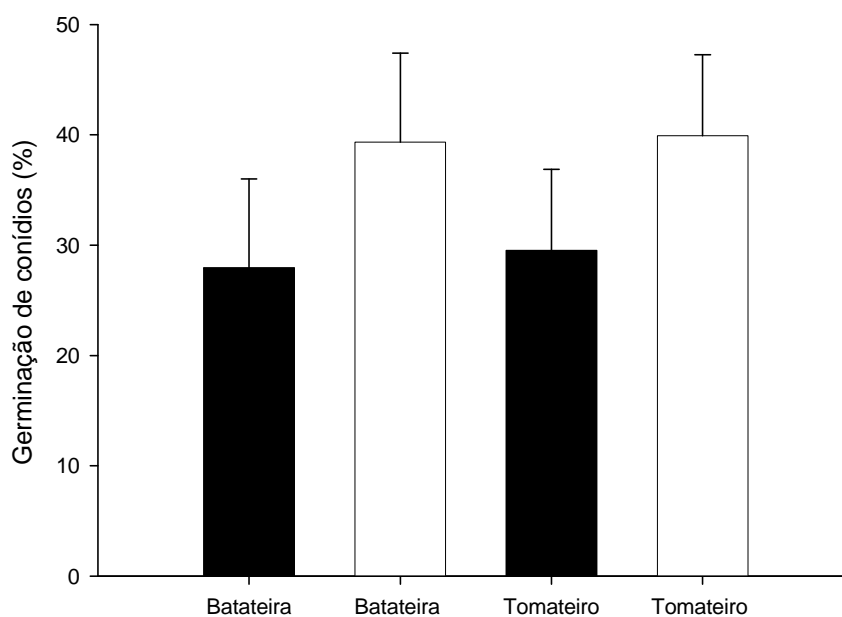


Figura 4 - Germinação de conídios (%) de *Alternaria solani*, de isolados de batateira e de tomateiro, no ensaio 1 (barra escura) e 2 (barra clara). As linhas sobre as barras representam o desvio padrão da média.

3.5. Esporulação de isolados de *Alternaria solani*

No primeiro ensaio, houve efeito significativo dos isolados ($P = 0,0038$). O valor médio da produção de conídios dos isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira. No segundo ensaio, houve efeito significativo dos isolados ($P < 0,0001$). O valor médio da produção de conídios dos isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro foi maior que o dos isolados obtidos de batateira ($P = 0,0020$) (Figura 5).

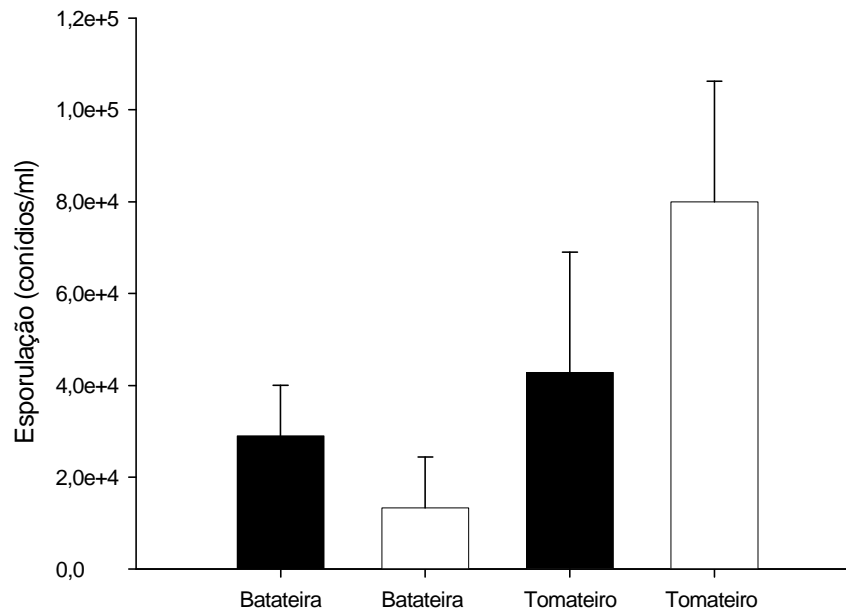


Figura 5 - Produção de conídios (conídios/ml) de *Alternaria solani*, de isolados de batateira e de tomateiro, nos ensaios 1 (barra escura) e 2 (barra clara). As linhas sobre as barras representam o desvio padrão da média.

4. DISCUSSÃO

Não há evidências da ocorrência da espécie *A. tomatophila* associada a epidemias de pinta preta do tomateiro no Brasil. Os resultados aqui obtidos confirmam a ausência de diferenças significativas no conjunto de isolados estudados para variáveis importantes usadas na taxonomia de espécies do gênero *Alternaria*. Esta conclusão é confiável por se ter utilizado uma amostragem representativa, com avaliação de maior número de espécimens e avaliação criteriosa de maior número de variáveis de importância taxonômica, comparado ao realizado no trabalho de Simmons (2000).

Variações em características morfológicas em espécies de *Alternaria* são comuns (Bonde, 1927; Bonde, 1929; Neergaard, 1945; Rotem, 1966; Bóveda, 1986; Rotem, 1994). Ademais, mutações parecem ocorrer com frequência entre isolados do patógeno. Por exemplo, recentemente relatou-se que a perda de sensibilidade de isolados de *A. solani* ao fungicida azoxystrobin foi causada pela mutação em um gene mitocondrial (Pasche *et al.*, 2005). A forma sexuada de *A. solani* é desconhecida ou inexistente e o fungo reproduz-se principalmente por processos assexuados (Rotem, 1994; Simmons, 2000). A estrutura da população do patógeno em muitos locais é clonal (Martínez *et al.*, 2004). Os fatores reprodutivos e de estrutura populacional podem ter contribuído para a predominância de um mutante em determinado local, o qual, por chance, foi isolado e analisado levando à proposição da espécie *A. tomatophila*. Por outro lado, há que se considerar, também, que a espécie *A. tomatophila* está associada a epidemias de pinta preta em tomateiro, porém ainda não é encontrada no Brasil. No presente trabalho, foram avaliados 16 isolados de tomateiro e 15 de batateira oriundos de diferentes regiões geográficas. Acredita-se que o esquema de amostragem aqui empregado permitiu uma redução das chances de coleta e análise de mutantes ou de indivíduos selecionados em populações locais que divergem acentuadamente quanto às características morfológicas da maioria dos indivíduos da espécie.

A variabilidade na morfologia dos conídios de isolados de *A. solani* relatada no presente estudo foi também verificada em outros trabalhos com este patógeno (Bonde, 1927; Bonde, 1929; Neergaard, 1945; Rotem, 1966; Bóveda, 1986; Rotem, 1994). É razoável assumir que a variabilidade observada está dentro da relatada para indivíduos da espécie *A. solani*. Variações morfométricas foram verificadas tanto dentro do grupo de isolados oriundos de tomateiro ou de batateira, quanto entre grupos. Porém, as

características morfológicas dos isolados provenientes de tomateiro não diferiram das medidas para os isolados de batateira. Dentre os critérios utilizados para a identificação de espécies de *Alternaria*, os mais utilizados são: formato dos conídios, septação e tamanho, características do bico, dimensão dos conidióforos, catenulação, a gama de hospedeiros e propriedades fisiológicas inerentes (Neergaard, 1945). De todas as características utilizadas para a identificação, as dimensões do corpo e do bico dos conídios são consideradas as mais importantes. A largura dos conídios parece não ser uma característica tão relevante, pois a maioria das espécies possui conídios com valores similares para esta variável. Já o comprimento dos conídios apresenta grande variação, em muitos casos é utilizado para separar espécies ou isolados de uma espécie (Rotem, 1994). No presente estudo, não foram encontradas diferenças quanto a estas variáveis entre os isolados que causam pinta preta em batateira e os que afetam tomateiro.

A variabilidade das características culturais dos isolados de *A. solani*, provenientes de tomateiro e batateira observada entre os isolados brasileiros do patógeno está em conformidade com a observada em outros estudos (Bonde, 1929; Rotem, 1966). Maiores variações foram constatadas para a coloração do micélio aéreo e pigmentação difundida no meio. As tonalidades mais frequentes de coloração do micélio aéreo foram cinzentas a esverdeadas, porém nem todos os isolados produziram pigmentos. A variabilidade na produção de pigmentos por *A. solani*, além de ser inerente ao isolado testado, pode ainda estar correlacionada com a temperatura de incubação (Bonde, 1929; Neergaard, 1945). Neergaard (1945) verificou que a faixa de temperatura ótima para a produção máxima de pigmentos por *A. solani* está entre 17 e 27°C. No presente estudo, a temperatura de incubação foi de 25°C, proporcionando condições ideais para que os isolados produzissem pigmentos. A produção de pouco pigmento ou a não produção por alguns isolados é característica inerente ao indivíduo. Portanto, a produção de pigmento, por ser influenciada pelo meio e pelo genótipo do indivíduo, não deve ser considerada como variável determinante na classificação de *A. solani*. Neste estudo, a pigmentação ou ausência de pigmentos variou conforme a origem dos isolados, mas não houve variação quanto à coloração do micélio, quando grupos de isolados foram comparados.

Apenas dois isolados de *A. solani*, obtidos de batateira, produziram cristais de coloração vinácea, sempre associado à produção de pigmentos que se difundiram no meio. Em trabalho com as espécies *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens* e *A. infectoria*, a produção de cristais não foi correlacionada a produção de pigmentos

(Pryor & Michailides, 2002). Em nosso trabalho, apenas dois isolados de batateira produziram cristais. Por essa razão, não foi possível determinar com segurança a associação entre a produção de pigmentos e cristais, pois a frequência de formação de cristais foi baixa.

Houve variação entre os isolados de *A. solani* quanto à textura. Das categorias propostas por Nobles (1948), apenas três foram verificadas nos isolados de *A. solani* avaliados. A textura cotonosa foi a mais frequente, corroborando resultados relatados em outros trabalhos com *A. solani* (Neergaard, 1945; Rotem, 1966). Além da categoria cotonosa, foram constatadas as categorias feltrosa e lanosa. Texturas mistas também foram observadas, diferentemente de outros estudos com esta espécie (Neergaard, 1945; Rotem, 1966). É possível que o uso da escala tenha possibilitado avaliar com maior acurácia a textura das colônias e melhor percepção de matizes.

Há na literatura vários relatos de diferenças quanto ao crescimento micelial entre isolados de *A. solani* provenientes de batateira e de tomateiro (Bonde, 1927; Bonde, 1929; Rotem, 1966; Bóveda, 1986; Fancelli, 1991). Comumente, relata-se que isolados de tomateiro crescem mais rapidamente que isolados de batateira (Fancelli, 1991). Tal fato foi também evidenciado no presente estudo.

Não foram evidenciadas diferenças significativas entre isolados obtidos de tomateiro e batateira, quanto à germinação dos seus conídios. Entretanto, foram constatadas, diferenças significativas entre os grupos de isolados quanto à produção de conídios *in vitro*, em apenas um dos ensaios. A produção de conídios é característica variável em populações de *A. solani* e há relatos de variação para um mesmo isolado em épocas distintas (Higgins, 1952; Fancelli, 1991; Rodrigues *et al.*, 2005). Portanto, a ocorrência de diferenças em um dos ensaios poderia ser causada por variações aleatórias inerentes aos isolados.

A variabilidade cultural em *A. solani* pode ser influenciada pelo tempo de armazenamento dos isolados. Variações nas características originais dos isolados, com relação à produção de pigmentos em meio e no micélio aéreo, na textura e taxa de crescimento micelial foram constatadas quando isolados foram armazenados durante um período de seis anos (Rotem, 1966). No presente estudo, dois isolados obtidos de tomateiro e cinco isolados oriundos de batateira, de diferentes locais, foram coletados há quase seis anos. É possível que parte da variabilidade tenha sido influenciada pelo tempo de armazenamento. No entanto, este fator não invalida as conclusões desse trabalho uma vez que estes isolados apresentaram variações semelhantes às observadas para os isolados que foram obtidos recentemente.

Além das variáveis taxonômicas consideradas importantes e que foram utilizadas para a proposição da espécie *A. tomatophila*, no presente trabalho foram avaliados outros atributos com o propósito de coletar maior número de evidências para suportar ou não a hipótese. As outras características do patógeno, que foram utilizadas neste estudo foram: coloração e textura do micélio aéreo, pigmentação difundida no meio e crescimento micelial. Em geral, não houve diferenças entre as variáveis quando isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro foram comparados àqueles oriundos de batateira. Investigar detalhadamente as populações brasileiras de *A. solani* é importante, pois outros autores, baseados nestas e em outras características, sugeriram indícios de especializações por hospedeiro nestas populações (Fancelli, 1991; Scheuermann *et al.*, 2004). No trabalho conduzido por Fancelli (1991), foram verificadas variações dos isolados quanto às características culturais. Por outro lado, no presente trabalho, diferenças entre os isolados obtidos de tomateiro e batateira só foram confirmadas quanto ao crescimento micelial e esporulação. Não há, no entanto, registro na literatura micológica do uso de tal característica (habilidade de crescimento micelial), isoladamente, como critério para a separação de espécies. Ademais, a característica de esporular é bastante variável em populações de *A. solani*. Portanto, não foram aqui obtidos evidências da ocorrência de isolados da espécie de *A. tomatophila* no Brasil. Os conídios de *A. tomatophila* apresentam dimensões bem maiores e normalmente um único bico que começa abruptamente no final do corpo (Simmons, 2000). Estas características contrastaram com os conídios de *A. solani* isolados de tomateiro evidenciados neste estudo. Os conídios apresentaram dimensões menores (comprimento e largura), presença de um ou mais de um bico, que começa gradualmente quando termina o corpo do conídio, características estas típicas da espécie *A. solani*.

Há variabilidade entre isolados brasileiros de *A. solani* e a hipótese de existência de especificidade por hospedeiros é plausível. Porém, se houver especificidade, trata-se de variação infraespecífica, ou seja, diferenças quanto à agressividade entre indivíduos de subpopulações de *A. solani* quando associados a tomateiro ou a batateira. Estas diferenças são importantes e poderão contribuir para um eventual processo de especiação. No entanto, para investigar esta possibilidade, são necessários estudos para quantificar a variabilidade patogênica, por meio de componentes epidemiológicos. Com base nas características morfofisiológicas avaliadas no presente estudo, pode-se concluir que não há evidências em favor da separação taxonômica de isolados de *A. solani* obtidos de batateira e de tomateiro, ao nível de espécie.

CAPÍTULO 2

AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE *Alternaria solani* DE BATATEIRA E TOMATEIRO

1. INTRODUÇÃO

Com a quantificação da variabilidade quanto à agressividade em populações de fitopatógenos obtêm-se informações úteis para elucidar questões epidemiológicas de caráter aplicado, bem como informações de aspectos evolutivos, de caráter mais básico. Por exemplo, diferenças de agressividade entre indivíduos de uma mesma espécie, obtidos de diferentes espécies de plantas hospedeiras, podem implicar em distintos níveis de intensidade da epidemia, conforme a espécie hospedeira. Nestes casos, o manejo da doença pode ser diferenciado em função da combinação genótipo do patógeno-hospedeiro, conforme já demonstrado ocorrer no patossistema *Phytophthora infestans* x batateira (*Solanum tuberosum*) (Kato *et al.*, 1997). Dentre as implicações evolutivas da variabilidade, tem-se a possibilidade do estabelecimento de populações com especificidade para hospedeiros, nas quais eventuais processos de especiação poderiam ocorrer em longo prazo (Peever *et al.*, 2000).

A pinta preta da batateira e do tomateiro, causada pelo hifomiceto *Alternaria solani* Sorauer, é uma doença destrutiva em praticamente todos os locais onde as espécies suscetíveis são cultivadas (Rotem, 1994). O patógeno reproduz-se assexuadamente e, conforme mencionado, afeta mais de uma espécie de planta. Investigações preliminares da estrutura genética da população de *A. solani* no Brasil, com base em marcador molecular (RAPD), sugerem haver diferenciação genética entre as populações de *A. solani* que afetam tomateiro e batateira (Scheuermann *et al.*, 2004). Porém, para que conclusões mais seguras possam ser obtidas é necessário determinar se há diferenças patogênicas importantes que corroborem a possível especialização por hospedeiro.

A determinação da ocorrência ou não de especialização por hospedeiros poderá contribuir para melhorar o manejo da doença, caso haja diferenças epidemiológicas relevantes. Há no Brasil, uma única população de *A. solani* capaz de afetar, com mesma agressividade, diferentes hospedeiros ou há subpopulações distintas que interagem de forma diferenciada conforme a cultura? Caso haja subpopulações específicas para os respectivos hospedeiros, outra questão de interesse seria: há

diferenças epidemiológicas importantes que justifiquem o manejo diferenciado da doença? Para responder a estas perguntas, é necessário quantificar a variabilidade quanto à agressividade na população do patógeno.

Variações quanto à agressividade de isolados de *A. solani* provenientes de batateira são conhecidas desde os primeiros trabalhos com o patógeno (Bonde, 1929). Em estudo, realizado em meados do século XX, com 180 isolados monoconidiais de *A. solani* de tomateiro, constataram-se variações quanto à agressividade em espécies de *Solanum*, com diferentes níveis de resistência ao patógeno (Henning & Alexander, 1959). Ao analisar a agressividade de isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro, batateira e berinjela, observou-se que, nos diferentes hospedeiros, ou em condições diferentes do mesmo hospedeiro (plântulas, folíolos destacados ou plantas adultas), a inoculação de cada isolado resultou em graus variados de agressividade (Rotem, 1966). No mesmo estudo, verificou-se que alguns isolados tinham suas agressividades reduzidas, enquanto outros permaneciam estáveis, quando armazenados durante cinco anos. Constatou-se ainda que, isolados que tiveram a agressividade diminuída eram instáveis em suas características culturais, enquanto isolados estáveis quanto à agressividade, também os eram nas suas características culturais. Concluiu-se que as mudanças nas características culturais estavam associadas a uma possível degeneração dos isolados quanto à agressividade (Rotem, 1966).

Diversos autores têm verificado especialização patogênica de populações de *A. solani* quanto a hospedeiros na família *Solanaceae* (Jones & Darling, 1953; Fancelli, 1991; Weir *et al.*, 1998). Maior distância genética ocorreu entre os grupos de isolados provenientes de diferentes hospedeiros do que dentro de cada um dos grupos (Weir *et al.*, 1998). Adicionalmente, isolados oriundos de batateira foram menos agressivos que os provenientes de tomateiro, quando ambos os grupos de isolados foram inoculados em genótipos de tomateiro. Fato similar ocorreu para isolados brasileiros de *A. solani* (Bóveda, 1986; Fancelli, 1991; Castro *et al.*, 2000). Sintomas típicos da pinta preta em hastes de tomateiros foram causados apenas por isolados obtidos de tomateiro (Fancelli, 1991). Isolados obtidos de batateira, quando inoculados em tomateiro induziram sintomas atípicos, como a ausência de lesões na haste e necroses pardoclaras nas folhas, sem os círculos concêntricos (Fancelli, 1991). Com base nestas diferenças, sugeriu-se a nomenclatura *A. solani* f. sp. *lycopersici* para os indivíduos que afetam tomateiro e *A. solani* f. sp. *solani* para isolados de batateira (Fancelli, 1991). Essas diferenças de agressividade entre isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro e os de batateira sugerem a possibilidade de haver especialização por

hospedeiro nas populações do patógeno. Entretanto, neste estudo, o número de isolados avaliados foi pequeno. Apenas dois isolados oriundos de batateira e dois de tomateiro foram utilizados no trabalho de Fancelli (1991) e poucas variáveis relacionadas à agressividade foram quantificadas.

Os componentes epidemiológicos podem ser utilizados para caracterizar as diferenças de agressividade entre isolados de *A. solani* (Henning & Alexander, 1959; O'Leary & Shoemaker, 1983; Pelletier & Fry, 1990; Castro *et al.*, 2000). A quantificação dos eventos relacionados à patogênese (adesão, penetração, germinação, colonização e multiplicação), que têm implicação epidemiológica e que estão associados aos atributos de adaptabilidade do patógeno, possibilita o estudo detalhado de diferenças entre isolados e, portanto, sua caracterização quanto à variabilidade patogênica (Bonde, 1929; Rotem, 1966; Rotem, 1994).

Escassos são os relatos sobre a variação na frequência de infecção (FI - número de lesões por conídios germinados). Normalmente, esta variável é quantificada em estudos de caracterização da resistência de cultivares à pinta preta (Pelletier & Fry, 1990; Dita Rodriguez *et al.*, 2006). No entanto, a FI é variável importante para quantificar a agressividade (Parlevliet, 1979), pois está associada à taxa reprodutiva do patógeno, e variações entre isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro já foram relatadas (Higgins, 1952). Período de incubação (PI) e período latente (PL) são comumente utilizados para caracterização da variabilidade em espécies de *Alternaria* (Michereff *et al.*, 2003). Contudo, para isolados de *A. solani* obtidos no Brasil, estas variáveis ainda não foram mensuradas. Também não há relatos do uso da variável tamanho de lesão (TL).

Em síntese, apesar de a variabilidade quanto à agressividade ter implicações importantes para o manejo da pinta preta, há poucos trabalhos conduzidos com isolados brasileiros de *A. solani* nos quais componentes epidemiológicos tenham sido adequadamente quantificados.

O objetivo deste trabalho foi o de contribuir para o preenchimento desta lacuna e verificar se há especialização por hospedeiro em populações de *A. solani* que causam a pinta preta em batateira e tomateiro. Para tal, inocularam-se batateiras e tomateiros com os isolados obtidos de cada um destes hospedeiros e quantificaram-se os componentes epidemiológicos. Testou-se a hipótese de não haver diferenças de agressividade entre os isolados de *A. solani* oriundos de batateira e de tomateiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e manutenção dos isolados de *Alternaria solani*

Utilizaram-se oito isolados oriundos de batateira e oito de tomateiro, coletados em 2004 e 2005, em diferentes áreas produtoras (Tabela 1). Das amostras coletadas no campo, procedeu-se ao isolamento direto quando havia conídios nas lesões. Para tal, com um estilete, ao microscópio estereoscópico, retiraram-se conídios do patógeno destas lesões e transferiram-se os mesmos para placas de Petri, contendo o meio BSA (batata-sacarose-ágar). Quando não havia esporulação, procedeu-se ao isolamento das lesões (adaptado de Tuite, 1969).

Para a preservação dos isolados, depositaram-se discos com as estruturas do patógeno, sobre fragmentos de papel filtro (aproximadamente 1 x 1 cm), previamente esterilizados, dispostos sobre BSA, e mantidos em incubadora sob luz contínua a 25°C. Após crescimento sobre os fragmentos, as hifas foram retiradas das placas e armazenadas a -80°C em envelopes esterilizados de papel (Rodrigues *et al.*, 2005).

Para obter colônias esporulantes, os fragmentos de papel filtro colonizados foram retirados do congelador e depositados em erlenmeyers de 250 mL, contendo 50 mL do meio líquido V8 (200 mL/L de suco de vegetais V8[®], 800 mL de água destilada) suplementado com sulfato de estreptomicina (16,66 mg/L) e cloranfenicol (25 mg/L), os quais foram mantidos sob agitação (110 rpm), no escuro a temperatura ambiente (25 a 28°C). Após 7 dias, o micélio produzido foi triturado em Politron[®] a 4000 rpm, por 1 min. Da suspensão obtida, alíquotas de 10 mL foram vertidas em BSA em placas de Petri, mantidas sem tampas, sob 6 lâmpadas de luz negra 40W (Sylvania[®]-1,20m de comprimento, distância de 3cm entre si e posicionadas a 30cm de altura das placas) por 60 h, em regime de fotoperíodo de 12 h (Rodrigues *et al.*, 2005).

Após a esporulação, obtiveram-se isolados monospóricos de cada cultura. Para tal, adicionaram-se 10mL de água destilada esterilizada (ADE) a cada placa, as colônias foram raspadas com escova de cerdas macias, filtrou-se a suspensão obtida em camada dupla de gaze e se retirou uma alíquota de 1,0 mL (0,1%), que foi espalhada em meio ágar-água (17 g de ágar, 1000mL de água destilada) em placas de Petri. As placas foram mantidas sob luz contínua a 25°C. Após 12 h, os conídios germinados foram transferidos, ao microscópio estereoscópico (80X), para BSA

suplementado com 100 mg/L de estreptomicina e 100 mg/L de cloranfenicol, em placas de Petri.

Tabela 1 – Isolados de *Alternaria solani* utilizados nos experimentos.

Código	Hospedeiro	Procedência	Data da coleta
AS1B	Batateira	Conselheiro Lafayete (MG)	06/2004
AS2B	Batateira	Domingos Martins (ES)	06/2004
AS5B	Batateira	Marechal Floriano (ES)	01/2005
AS8B	Batateira	Bueno Brandão (MG)	06/2004
AS10B	Batateira	São Francisco de Paula (RS)	04/2005
AS11B	Batateira	Araxá (MG)	01/2005
AS12B	Batateira	Ibiá (MG)	01/2005
AS15B	Batateira	Contenda (PR)	04/2005
AS3T	Tomateiro	Alfredo Wagner (SC)	03/2005
AS4T	Tomateiro	Domingos Martins (ES)	01/2005
AS6T	Tomateiro	Viçosa (MG)	06/2004
AS7T	Tomateiro	Pelotas (RS)	05/2005
AS9T	Tomateiro	Sumidouro (RJ)	02/2005
AS13T	Tomateiro	Ibiúna (SP)	01/2005
AS14T	Tomateiro	Araucária (PR)	04/2005
AS16T	Tomateiro	Timbó (SC)	01/2005

2.2. Quantificação de componentes epidemiológicos

Utilizaram-se colônias de *A. solani* com esporulação abundante, com 8 dias de idade, para preparo da suspensão de inóculo. A cada colônia, adicionaram-se 10mL de ADE (água-destilada esterilizada) contendo 0,01% de Tween 20 e realizou-se a raspagem com escova de cerdas macias. O lavado foi vertido através de camada dupla de gaze, recolhido em um béquer e se ajustou a concentração da suspensão para 10^3 conídios/mL (Nunes, 1983; Dita Rodriguez *et al.*, 2006).

Foram utilizados tomateiros ‘Santa Clara’, com 45-55 dias de idade (Castro *et al.*, 2000) e batateiras cv. ‘Monalisa’, com aproximadamente 50 dias de idade (Dita Rodriguez *et al.*, 2006). As plantas foram cultivadas em vasos, contendo solo misturado com areia e esterco de curral (3:1:1), previamente esterilizado com brometo de metila. Todos os tratamentos culturais (aplicação de inseticidas e fungicidas, desbaste etc.), foram realizados sob condições de casa de vegetação.

Folículos de tomateiro e batateira foram inoculados na superfície adaxial, por atomização, para quantificação da frequência de infecção, ou por deposição de gota da suspensão de conídios, de cada isolado, para os demais componentes. Na inoculação, pulverizou-se a suspensão com atomizador DeVilbiss em todas as folhas das plantas.

Na inoculação por gota, depositaram-se quatro gotas da suspensão de inóculo, na superfície adaxial de quatro folíolos do terço inferior e em quatro do terço intermediário de cada planta. Para facilitar a aderência da gota no ponto de inoculação, a suspensão conidial foi suplementada com gelatina (sem sabor incolor) a 1% (p/v) (Dita Rodriguez *et al.*, 2006).

Os isolados obtidos de tomateiro foram inoculados em tomateiros e batateiras e o mesmo ocorreu para os isolados obtidos de batateira. Depois de inoculadas, as plantas foram mantidas a 25°C, em câmara úmida, constituída de sacos de polietileno umedecidos internamente com água destilada. Após 12 h, os sacos plásticos foram removidos e as plantas foram transferidas para casa de vegetação.

Os experimentos para determinação do período de incubação e freqüência de infecção foram repetidos duas vezes. Entretanto, os experimentos para a determinação do período latente e tamanho de lesões foram repetidos apenas uma vez, devido a dificuldades na obtenção de esporulação em condições *in vivo*.

2.2.1. Freqüência de infecção

Para quantificar a freqüência de infecção (FI), em cada um dos oito folíolos avaliados por planta, colocou-se uma lamínula (18 x 18 mm), e atomizou-se a suspensão de conídios na face adaxial. Após a inoculação, a lamínula foi retirada, depositada sobre lâmina contendo uma gota de lactofenol e, ao microscópio de luz (100X), determinou-se o número de conídios depositados. As plantas inoculadas foram cobertas com sacos de polietileno e mantidas a 25°C. Após 12 h, os sacos plásticos foram retirados e as plantas foram levadas para casa-de-vegetação. Após o aparecimento de sintomas típicos da pinta preta, entre o terceiro e sétimo dia após a inoculação, os folíolos foram removidos da planta, o número de lesões foi contado e a área do folíolo quantificada utilizando-se o programa QUANT (Vale *et al.*, 2002).

O número de conídios depositado por folíolo foi estimado com base na área do folíolo, descontados 3,24 cm² (área protegida pela lamínula), multiplicada pelo número de conídios/cm² obtido pela contagem na lamínula (Rodrigues *et al.*, 2005). A FI foi definida como a razão entre o número de lesões pelo número de conídios depositados na área inoculada.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições no tempo. Cada unidade experimental foi constituída por uma planta, em esquema

fatorial 2 x 16, onde os fatores estudados foram: 2 hospedeiros e 16 isolados de *A. solani*.

2.2.2. Períodos de incubação e latente

O período de incubação (PI) foi definido como o tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas. As avaliações iniciaram-se 12 h após a inoculação e consistiram de observações diárias dos sintomas às 8:00, 16:00 e 21:00 h. O PI para cada isolado foi considerado completado quando se detectaram lesões em pelo menos dois dos folíolos inoculados em cada terço da planta.

O período latente (PL) foi definido como o tempo entre a inoculação e o aparecimento dos sinais. Quatro folíolos, distintos dos que foram avaliados para PI, foram inoculados para avaliar o PL. Após aparecimento de sintomas, os folíolos foram destacados das plantas e transferidos para câmara úmida constituída de caixas tipo gerbox (dois folíolos/gerbox). Para manutenção de alta umidade relativa, depositou-se chumaço de algodão umedecido com água destilada em cada gerbox. Os gerboxs contendo os folíolos foram mantidos à temperatura ambiente (21,4 a 27,3°C). A partir de 12 h da deposição dos folíolos nos gerboxs, foram realizadas observações regularmente às 10:00 e 22:00 h. As lesões foram observadas ao microscópio estereoscópico para detecção da presença de estruturas do patógeno. O PL foi considerado completado, quando observada ao menos uma lesão com conídios de *A. solani*, em pelo menos dois dos folíolos inoculados.

O delineamento experimental dos ensaios de PI e PL foi blocos casualizados, com cinco repetições no tempo, em esquema fatorial 2 x 16, onde os fatores estudados foram: 2 hospedeiros e 16 isolados de *A. solani*. Cada unidade experimental foi constituída por uma planta para o ensaio de PI ou um gerbox com 2 folíolos para o ensaio de PL.

2.2.3. Tamanho de lesão

Para os mesmos folíolos utilizados no experimento anterior avaliou-se o tamanho da lesão. Depois de completado o PL, quatro lesões foram medidas, com uma régua, em dois sentidos perpendiculares, obtendo-se o comprimento e largura das lesões. A média de duas medidas foi utilizada para estimar o valor do diâmetro médio.

O delineamento experimental foi blocos casualizados, com cinco repetições no tempo. Cada unidade experimental foi constituída por um gerbox com 2 folíolos, em esquema fatorial 2 x 16, onde os fatores estudados foram: 2 hospedeiros e 16 isolados de *A. solani*.

2.3. Análises estatísticas

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e as comparações, definidas *a priori*, entre médias de grupos de isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro e batateira foram realizadas por análise de contraste. As pressuposições para análise de variância foram avaliadas com base em teste de normalidade dos erros e padrão de gráficos de resíduos. Para os experimentos de PI e PL, os dados foram transformados para raiz quadrada e os ensaios foram analisados separadamente.

Para PI e PL, os modelos lineares (PROC GLM) e FI e TL (PROC GENMOD), foram ajustados com auxílio do programa The SAS System versão 8.0. Para FI e TL, assumiu-se que os dados seguiam distribuição de Poisson e a função de ligação utilizada foi log (modelo log linear).

3. RESULTADOS

No período de execução do experimento, as médias das temperaturas mínima e máxima na casa-de-vegetação foram 13,6 e 31,0°C, respectivamente. As médias dos valores de umidade relativa mínimas e máxima foram 42,6 e 91%, respectivamente.

3.1. Frequência de infecção

Para a frequência de infecção (FI), em ambos os ensaios, a interação isolados x hospedeiros e os fatores principais (isolados e hospedeiros) não foram significativos. O valor médio de FI, no primeiro e segundo ensaios, para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro ($8,7 \times 10^{-2}$ e $6,1 \times 10^{-2}$, respectivamente) não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira ($9,1 \times 10^{-2}$ e $7,4 \times 10^{-2}$, respectivamente) (Tabelas 2, 3 e 4).

3.2. Períodos de incubação e latente

Em ambos os ensaios para o período de incubação (PI), a interação isolados x hospedeiros e o fator principal hospedeiros não foram significativos. No primeiro ensaio, houve efeito significativo de isolados ($P = 0,014$), porém, este fator não foi significativo no segundo ensaio. Em ambos os ensaios, o valor médio do PI para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira (Tabelas 2, 3 e 4).

Para o período latente (PL), a interação isolados x hospedeiros e ambos os fatores principais (isolados e hospedeiros) não foram significativos. O valor médio de PL para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro (305,6 h) não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira (273,8 h) (Tabelas 2, 3 e 4).

Alguns folíolos inoculados senesceram antes que o período latente fosse completado.

3.3. Tamanho de lesão

Os fatores principais (isolados e hospedeiros) e a interação isolados x hospedeiros não foram significativos. O valor médio de TL para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro (0,13 cm) não diferiu da média dos isolados obtidos de batateira (0,11 cm) (Tabelas 2, 3 e 4).

Tabela 2- Valores médios (obtidos de cinco repetições) e desvio padrão (entre parênteses) dos componentes epidemiológicos determinados para isolados de *Alternaria solani*, inoculados em batateira, no primeiro e segundo ensaios.

Isolados	Ensaio 1			Ensaio 2		
	Frequência de infecção*	Período de incubação (h)	Período latente (h)	Tamanho de lesão (cm)	Frequência de infecção*	Período de incubação (h)
AS1B	4,37x10 ⁻² (0,0535)	309 (204,89)	244** (-)	0,12 (0,31)	6,55x10 ⁻² (0,0479)	192,40 (111,11)
AS2B	5,30x10 ⁻² (0,0960)	119,60 (34,12)	256 (44,90)	0,14 (0,37)	3,89x10 ⁻² (0,0599)	258,44 (177,63)
AS3T	8,14x10 ⁻² (0,1030)	135,10 (98,16)	232,50 (67,65)	0,09 (0,21)	6,01x10 ⁻² (0,0974)	185,55 (104,24)
AS4T	7,07x10 ⁻² (0,1932)	322,50 (157,34)	280** (-)	0,04 (0,08)	5,28x10 ⁻² (0,0894)	379,71 (125,19)
AS5B	3,18x10 ⁻¹ (0,5338)	152 (122,65)	208** (-)	0,20 (0,44)	7,24x10 ⁻² (0,1137)	288,67 (163,12)
AS6T	1,18x10 ⁻¹ (0,2222)	245,67 (122,83)	340** (-)	0,23 (0,49)	1,53x10 ⁻² (0,0311)	324 (166,04)
AS7T	7,36x10 ⁻² (0,1113)	140,20 (69,66)	-	0,17 (0,30)	2,68x10 ⁻² (0,0625)	284,86 (136,03)
AS8B	6,83x10 ⁻² (0,1883)	230,80 (43,65)	-	0,05 (0,12)	3,76x10 ⁻² (0,0993)	398 (169,70)
AS9T	1,19x10 ⁻¹ (0,2493)	290,44 (245,96)	268** (-)	0,14 (0,29)	1,02x10 ⁻¹ (0,1684)	273,43 (135,99)
AS10B	8,82x10 ⁻² (0,2411)	205,14 (111,40)	-	0,09 (0,19)	1,07x10 ⁻¹ (0,2202)	143 (31,26)
AS11B	5,39x10 ⁻² (0,1473)	303 (145,26)	-	0,17 (0,36)	1,39x10 ⁻¹ (0,2574)	266 (105,98)
AS12B	7,30x10 ⁻³ (0,0088)	350 (194,16)	-	0,01 (0,03)	2,91x10 ⁻² (0,0491)	431,60 (203,43)
AS13T	1,92x10 ⁻¹ (0,5483)	170,80 (105,16)	-	0,03 (0,07)	3,96x10 ⁻² (0,0918)	334 (155,85)
AS14T	1,86x10 ⁻¹ (0,3336)	286,50 (169,33)	292** (-)	0,09 (0,12)	7x10 ⁻³ (0,0271)	384,67 (115,31)
AS15B	3,64x10 ⁻² (0,0998)	162,50 (70,17)	-	0,07 (0,18)	6,09x10 ⁻² (0,0688)	385,55 (136,01)
AS16T	8,68x10 ⁻² (0,1587)	212,30 (149,62)	296 (6,93)	0,04 (0,19)	1,38x10 ⁻¹ (0,1520)	256,67 (165,02)

* média do número de lesões /número de conídios depositados na área inoculada; ** valores obtidos de apenas uma repetição - valor não obtido.

Tabela 3- Valores médios (obtidos de cinco repetições) e desvio padrão (entre parênteses) dos componentes epidemiológicos determinados para isolados de *Alternaria solani*, inoculados em tomateiro, no primeiro e segundo ensaio.

Isolados	Ensaio 1			Ensaio 2		
	Frequência de infecção*	Período de incubação (h)	Período latente (h)	Tamanho de lesão (cm)	Frequência de infecção*	Período de incubação (h)
AS1B	6,72x10 ⁻² (0,0880)	130,40 (53,81)	244 (63,50)	0,16 (0,25)	1,36x10 ⁻¹ (0,1603)	205,20 (77,51)
AS2B	8,02x10 ⁻² (0,1203)	139,78 (61,12)	296,67 (55,15)	0,12 (0,21)	1,02x10 ⁻¹ (0,1823)	283,33 (213,98)
AS3T	4,50x10 ⁻² (0,0610)	182 (81,60)	382 (195,16)	0,12 (0,21)	9,38x10 ⁻² (0,1438)	248,67 (247,39)
AS4T	6,70x10 ⁻³ (0,0164)	210,20 (100,19)	268** (-)	0,18 (0,24)	2,36x10 ⁻² (0,0493)	271,60 (181,23)
AS5B	1,67x10 ⁻¹ (0,2670)	154,80 (77,22)	352 (152,73)	0,23 (0,39)	6,42x10 ⁻² (0,1062)	269 (142,24)
AS6T	1,98x10 ⁻² (0,0416)	140 (92,25)	252 (27,71)	0,26 (0,38)	3,64x10 ⁻² (0,0868)	303 (165,47)
AS7T	1,05x10 ⁻¹ (0,3659)	185,40 (121,81)	292,67 (61,00)	0,27 (0,40)	1,50x10 ⁻¹ (0,2129)	260,22 (138,09)
AS8B	2,60x10 ⁻² (0,0454)	214,67 (74,92)	-	0,03 (0,11)	2,94x10 ⁻² (0,1061)	290,80 (103,78)
AS9T	5,53x10 ⁻² (0,0686)	222 (116,27)	454 (76,37)	0,09 (0,17)	8,93x10 ⁻² (0,1866)	292,67 (132,17)
AS10B	3,88x10 ⁻² (0,0489)	112,50 (46,95)	296 (122,57)	0,14 (0,21)	6,86x10 ⁻² (0,0940)	142 (149,10)
AS11B	1,41x10 ⁻¹ (0,3339)	162,50 (145,12)	-	0,19 (0,19)	8,59x10 ⁻² (0,1919)	248,67 (84,91)
AS12B	4,30x10 ⁻³ (0,0121)	155,10 (97,17)	256** (-)	0,02 (0,08)	1,27x10 ⁻¹ (0,3063)	244,86 (104,04)
AS13T	9,73x10 ⁻² (0,3287)	219 (133,19)	-	0,06 (0,15)	2,91x10 ⁻² (0,0695)	319,142 (76,79)
AS14T	3,28x10 ⁻² (0,0827)	160,44 (67,72)	418 (93,34)	0,10 (0,20)	2,28x10 ⁻² (0,0817)	207,33 (52,68)
AS15B	1,12x10 ⁻¹ (0,2277)	115,40 (44,54)	-	0,07 (0,10)	3x10 ⁻² (0,0769)	249 (63,56)
AS16T	1,50x10 ⁻¹ (0,2789)	164,80 (63,77)	280,67 (67,89)	0,11 (0,26)	5,09x10 ⁻² (0,0974)	210 (88,05)

* média do número de lesões /número de conídios; ** valores obtidos de apenas uma repetição - valor não obtido.

Tabela 4- Resumo dos valores médios dos componentes epidemiológicos de isolados de *Alternaria solani* obtidos de batateira e de tomateiro

Componente epidemiológico	Batateira		Tomateiro	
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2
Frequência de infecção*	9,10x10 ⁻²	7,40x10 ⁻²	8,70x10 ⁻²	6,10x10 ⁻²
Período de incubação (h)	179,56	269,68	200,83	282,76
Período latente (h)	273,79	-	305,55	-
Tamanho de lesão (cm)	0,11	-	0,13	-

* número médio de lesões /número de conídios depositado por área inoculada; - = valor não obtido.

4. DISCUSSÃO

Não houve diferença de agressividade entre isolados de *A. solani* obtidos de batateira e de tomateiro. Concluiu-se que isolados de *A. solani* são igualmente agressivos quando inoculados no hospedeiro de origem ou em outra solanácea. A aparente ausência de diferenças quanto à agressividade sugere que as chances de haver especialização por hospedeiros nas populações de *A. solani* analisadas são baixas.

Em vários estudos, a questão da especificidade por hospedeiro foi abordada, e os resultados divergentes. A especialização foi constatada em alguns trabalhos (Fancelli, 1991; Martínez *et al.*, 2004; Scheuermann *et al.*, 2004), enquanto que em outro, *A. solani* foi considerado como patógeno inespecífico (Neergaard, 1945). A especialização fisiológica reportada e a proposição de *formae specialis* para os isolados de *A. solani* obtidos de tomateiro por Fancelli (1991) basearam-se em critérios subjetivos, como a formação ou não de sintomas “típicos”, e em características fenotípicas (capacidade de hidrolisar amido, frequência de colônias com setores resistentes a fungicidas, esporulação *in vitro* e diferenças sorológicas e eletroforéticas) que não necessariamente refletem diferenças de agressividade. Ademais, o número de isolados avaliados foi pequeno e a representatividade questionável. No presente estudo, a quantificação de vários componentes epidemiológicos e o uso de isolados obtidos de diferentes locais, tornou a confiabilidade dos resultados maior. Nos poucos trabalhos realizados no Brasil em que se quantificaram componentes epidemiológicos, o propósito foi quantificar níveis de resistência (Nunes, 1983; Dita Rodriguez *et al.*, 2006). Não se encontrou na literatura nenhum estudo no Brasil de variabilidade e quantificação de agressividade de *A. solani* por meio de componentes epidemiológicos com amostragem adequada. Por isso, é razoável aceitar que as evidências de que a população de *A. solani* no Brasil seja inespecífica para tomateiro e batateira, obtidas neste trabalho são mais confiáveis que as obtidas em estudos anteriores.

A ausência de diferenças de agressividade entre grupos de isolados obtidos de batateira e os de tomateiro dificulta o desenvolvimento de populações com especificidade para hospedeiros. No processo de especiação, diferenças de agressividade contribuem para que ocorra isolamento reprodutivo e desenvolvimento de espécies distintas. Como tais diferenças não foram observadas a existência de *A. tomatophila*, como espécie separada de *A. solani* e específica para tomateiro parece pouco provável. No Brasil, é comum a coexistência de cultivos de tomateiros e de

batateiras em uma região. Nestas circunstâncias, o desenvolvimento de uma nova espécie é dificultado, pois o isolamento geográfico pode não ser forte o suficiente para prevenir o isolamento genético-reprodutivo. Neste caso, a especiação transcorreria por um processo simpátrico, no qual diferenças de agressividade e especialização por hospedeiros seriam particularmente importantes (Gudelj *et al.*, 2004; Giraud *et al.*, 2006). Contudo, o processo simpátrico é tido como controverso e, ademais, a ausência de diferenças de agressividade relatada aqui dificultaria, em muito, o surgimento de uma nova espécie. Adicionalmente, a ausência de diferenças morfofisiológicas entre isolados obtidos de tomateiro e de batateira, corrobora a existência de uma única população da espécie morfológica *A. solani* que afeta tomateiro e batateira no Brasil.

Informações sobre especialização do patógeno e o monitoramento de agressividade são úteis para o desenvolvimento de estratégias de controle da pinta preta (Martínez *et al.*, 2004). Isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro ou de batateira podem infectar e causar epidemias em ambos os hospedeiros. Inóculo proveniente de restos culturais ou de plantas infectadas, de qualquer das duas espécies estudadas, pode contribuir para epidemias de pinta preta em tomateiro ou em batateira. Considerando apenas a agressividade do patógeno, não é possível propor manejo diferenciado da doença conforme a combinação da população patógeno-hospedeiro. Porém, ainda é necessário avaliar se os isolados que afetam, um dos hospedeiros diferem daqueles que afetam o outro, quanto aos requerimentos ecológicos tais como: temperatura, molhamento foliar, sensibilidade a fungicidas, entre outros.

5. CONCLUSÕES GERAIS

1. Não houve diferença entre isolados de batateira e tomateiro quanto às características morfológicas e fisiológicas estudadas;

2. Variações entre isolados de *A. solani* oriundos de tomateiro e de batateira quanto à agressividade estimada com base em componentes epidemiológicos não foi detectada;

3. Há indícios fortes da existência de apenas uma espécie de *Alternaria* causando pinta preta em tomateiro e batateira no Brasil: *Alternaria solani*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Batista, D. C.; Lima, M. A.; Haddad, F.; Maffia, L. A. & Mizubuti, E. S. G. Validation of decision support systems for tomato early blight and potato late blight, under Brazilian conditions. *Crop Protection* 25:664-670. 2006.

Boiteux, L. S.; Reifschneider, F. J. B.; Fonseca, M. E. N & Buso, J.A. Search for sources of early blight (*Alternaria solani*) field resistance not associated with vegetative late maturity in tetraploid potato germplasm. *Euphytica* 83:63-70. 1995.

Bonde, R. Variation of strains of *Alternaria solani* isolated from lesions on potato tubers. *Phytopathology* 17:56. 1927.

Bonde, R. Physiological strains of *Alternaria solani*. *Phytopathology* 19:533-548. 1929.

Bóveda, R. R. V. Morfologia, patogenicidade, esporulação e sensibilidade a fungicidas “in vitro” de *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones & Grout e *Alternaria alternata* (Fr) Keissler de solanáceas. Tese de mestrado. Departamento de Agronomia (Fitopatologia). Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiróz. 1986.

Castro, M. E. A.; Chaves, G. M.; Zambolim, L.; Cruz, C. D. & Silva, D. J. H. Efeito da concentração de inóculo na resistência do tomateiro a *Alternaria solani*. *Fitopatologia Brasileira* 24:463-465. 1999.

Castro, M. E. A.; Zambolim, L.; Chaves, G. M.; Cruz, C. D. & Matsuoka, K. Variabilidade patogênica de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta do tomateiro. *Summa Phytopathologica* 26:24-28. 2000.

Dita Rodriguez, M. A.; Brommonschenkel, S. H.; Matsuoka, K. & Mizubuti, E. S. G. Components of resistance to early blight in four potato cultivars: effect of leaf position. *Journal of Phytopathology* 154:230-235. 2006.

Douglas, D. R. The effect of light and temperature on the sporulation of different isolates of *Alternaria solani*. *Canadian Journal of Botany* 50:629-634. 1972.

Ellis, M. B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. England: Commonwealth Mycological Institute. 1971.

Fancelli, M. I. Comparação patogênica, cultural, serológica e eletroforética entre isolados de *Alternaria solani* do tomate e da batata e variabilidade patogênica de *A. solani* f. sp. *lycopersici* N. F. Tese de Doutorado. Departamento de Agronomia (Fitopatologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 1991.

Giraud, T.; Villareal, L.; Austerlitz, F.; Le Gac, M. & Lavigne, C. Importance of the life cycle in sympatric host race formation and speciation of pathogens. *Phytopathology* 96:280-287. 2006.

Gudelj, I.; Fitt, B. D. L. & Van den Bosch, F. Evolution of sibling fungal plant pathogens in relation to host specialization. *Phytopathology* 94:789-795. 2004.

Haraguchi, H.; Abo, T.; Fukuda, A.; Okamura, N. & Yagi, A. Mode of phytotoxic action of altersolanols. *Phytochemistry* 43:989-992. 1996.

Higgins, D. J. Effect of medium on sporulation and pathogenicity of pathogenically different single conidial isolates of *Alternaria solani*. *Phytopathology* 42:11. 1952.

Henning, R. G. & Alexander, L. J. Evidence of existence of physiologic races of *Alternaria solani*. *Plant Disease Reporter* 43:298-308. 1959.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA). Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em 20/01/2006.

Jones, E. D. & Darling, H. M. Influence of nutrition, potato varieties, and isolates of *Alternaria solani* upon disease development. *Phytopathology* 43:476-477. 1953.

Kato, M.; Mizubuti, E. S. G.; Goodwin, S. B. & Fry, W. E. Sensivity to protectant fungicides and pathogenic fitness of clonal lineages of *Phytophthora infestans* in the United States. *Phytopathology* 87:973-978. 1997.

Lewis, R. W. Amino acid nutrition of *Alternaria solani*. *Phytopathology* 47:121-125. 1957.

Lilly, V.G. & Barnett, H. L. *Physiology of the Fungi*. New York: McGraw-Hill. 1951.

Ma, Z.; Felts, D. & Michailides T. J. Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 77:66-74. 2003.

Martínez, S. P.; Snowdon, R. & Pons-Kuhnemann, J. Variability of Cuban and international populations of *Alternaria solani* from different hosts and localities: AFLP genetic analysis. *European Journal of Plant Pathology* 110:339-409. 2004.

McDonald, B. A. & Linde, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* 124:163-180. 2002.

Maziero, J. M. N. Influência da temperatura e do tempo de molhamento foliar nos componentes epidemiológicos de *Phytophthora infestans* e validação do simulador Blight no Brasil. Tese de Mestrado. Departamento de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. 2001.

Michereff, S. J.; Noronha, M. A.; Rocha Jr, O. M.; Silva, J. A. & Mizubuti, E. S. G. Variabilidade de isolados de *Alternaria brassicicola* no Estado de Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira* 28:656-663. 2003.

Milgroom, M. G.; Levin, S. A. & Fry, W. E. Population genetics theory and fungicide resistance. In: Leonard, K. J. & Fry, W. E. *Plant Disease Epidemiology: Genetics, Resistance, and Management*, v.2, p. 340-367. 1986.

Mortensen, K. & Bergman, J. W. Cultural variance of *Alternaria carthami* isolates and their virulence on safflower. *Plant Disease* 67:1191-1194. 1983.

Munsell, A. H. *Munsell book of color - A Revision and Extension of "The Atlas of the Munsell Color System*. Munsell Color Company 2. 1957.

Nakasone, A. K.; Bettiol, W. & Souza, R. M. Efeitos de extratos aquosos de matéria orgânica sobre fitopatógenos. *Summa Phytopathologica* 25:330-335. 1999.

Neergaard, P. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium* taxonomy, parasitism, economical significance. London: Munksgaard. 1945.

Nishimura, S. & Kohmoto, K. Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Annual Review of Phytopathology* 21:87-116. 1983.

Nobles, M. K. Studies in forest pathology. VI. Identification of cultures of wood-rotting fungi. *Canadian Journal Research*. 26:281-431. 1948.

Nunes, M. A. Parâmetros que expressam a resistência da batateira (*Solanum tuberosum* L.) à pinta preta (*Alternaria solani* Ellis & Martin Jones & Grout). Tese de Mestrado. Departamento de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. 1983.

O'Leary, D. J. & Shoemaker, P. B. Components of resistance for tomato early blight. *Phytopathology* 73:803. 1983.

Oliveira, J.B.; Tito Jacomine, P. K. & Camargo, M.N. Classes gerais de solos do Brasil: guia auxiliar para seu reconhecimento. Jaboticabal: FUNEP. 1992.

Pasche, J. S.; Wharam, C.M. & Gudmestad, N. C. Effect of the F129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides affecting mitochondrial respiration. *Plant Disease* 89:269-278. 2005.

Padhi, N. N. & Rath, G. C. Sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. Indian Phytopathology 26:495-501.1973.

Parlevliet, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. Annual Review of Phytopathology 17:203-222. 1979.

Peever, T. L.; Olsen, L.; Ibanez, A. & Timmer, L. W. Genetic differentiation and host specificity among populations of *Alternaria* spp. causing brown spot of grapefruit and tangerine x grapefruit hybrids in Florida. Phytopathology 90:407-414. 2000.

Pelletier, J. R. & Fry, W. E. Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: receptivity. Phytopathology 80:361-366. 1990.

Pound, G. S. Effect of air temperature on incidence and development on the early blight disease of tomato. Phytopathology 41:127-135.1951.

Pryor, B. M. & Michailides, T. J. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. Phytopathology 92:406-416. 2002.

Pscheidt, J. W. & Stevenson, W. R. Early blight of potato and tomato: A literature review. Madison, WI: College of Agriculture & Life Sciences. 1986.

- Reis, A.; Smart, C.D.; Fry, W.E.; Maffia, L.A. & Mizubuti, E.S.G. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from southern and southeastern Brazil from 1998 to 2000. *Plant Disease* 87:896-900. 2003.
- Rodrigues, T. T.; Maffia, L. A.; Dhingra, O. D. & Mizubuti, E. S. G. Produção *in vitro* de conídios infectivos de *Alternaria solani*. *Fitopatologia Brasileira* 30:144. 2005.
- Rotem, J. Variability in *Alternaria porri* f. sp. *solani*. *Israel Journal of Botany* 15:48-57. 1966.
- Rotem, J. The Genus *Alternaria*: Biology, epidemiology and pathogenicity. St Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society. 1994.
- Scheuermann, K. K.; Falleiro, B. A. S.; Reis, A.; Brommonschenkel, S. H. & Mizubuti, E. S. G. Seleção de marcadores RAPD para estudo de diversidade genética de *Alternaria solani*. *Fitopatologia Brasileira* 29:49-50. 2004.
- Shaner, G. & Finney, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056. 1977.
- Simmons, E. G. *Alternaria* themes and variations (112-144). *Mycotaxon* 55:55-163. 1995.
- Simmons, E. G. *Alternaria* themes and variations (244-286) species on *Solanaceae*. *Mycotaxon* 75:1-115. 2000.

Snedecor, G. W. & Cochran, W. G. Statistical methods. Ames: Iowa State University Press. 1989.

Suassuna, N. D.; Maffia, L. A. & Mizubuti E. S. G. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. Plant Pathology 53:405-413. 2004.

Thrall, P.H.; Barret, L.G.; Burdon, J. J. & Alexander, H. M. Variation in pathogen aggressiveness within a metapopulation of the *Cakile maritime- Alternaria brassicicola* host- pathogen association. Plant Pathology 54:265-274. 2005.

Töfoli, J. G.; Domingues, R. J. & Kurozawa, C. Ação *in vitro* de fungicidas no crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta do tomateiro. Arquivos do Instituto Biológico 70:337-345. 2003.

Tuite, J. Plant pathological methods. Fungi and bacteria. Minneapolis: Burgess Publishing Company. 1969.

Vale, F. X. R.; Fernandes Filho, E. I. & Liberato, J. R. QUANT Versão 1.0.1. (Quantificação de doenças de plantas). Departamento de Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. 2002.

Yagi, A.; Okamura, N.; Haraguchi, H.; Abo, T. & Hashimoto, K. Antimicrobial tetrahydroanthraquinones from a strain of *Alternaria solani*. Phytochemistry 33:87-91. 1993.

Waggoner, P. E. & Parlange, J. Y. Verification of a model of spore germination at variable, moderate temperatures. *Phytopathology* 64:1192-1196. 1974.

Weir, T. L.; Huff, D. R.; Christ, B. J. & Romaine, C. P. RAPD-PCR analysis of genetic variation among isolates of *Alternaria solani* and *Alternaria alternata* from potato and tomato. *Mycologia* 90:813-821. 1998.