

AÇÃO “*IN VITRO*” DE FUNGICIDAS NO CRESCIMENTO MICELIAL E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE *ALTERNARIA SOLANI*, AGENTE CAUSAL DA PINTA PRETA DO TOMATEIRO

J.G. Tófoli¹, R.J. Domingues¹, C. Kurozawa²

¹Centro de Pesquisa de Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: tofoli@biologico.sp.gov.br

RESUMO

Testes “*in vitro*” foram realizados visando avaliar a ação inibitória de 16 fungicidas sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta do tomateiro. Os fungicidas foram testados nas concentrações de 0, 1, 10 e 100 µg.mL⁻¹ para ambos os critérios, sendo utilizadas as técnicas de diluição do fungicida em meio de cultura e do celofane (NEELY, 1978), respectivamente. Os maiores níveis de inibição foram obtidos com fungicidas específicos que mostraram ação diferenciada sobre as diferentes fases do ciclo de vida do fungo. Os fungicidas iprodione, cyprodinil, procymidone, fluazinam, e pyrimethanil apresentaram elevados níveis de inibição para ambos critérios. Metconazole, tebuconazole, difenoconazole e prochloraz proporcionaram elevada inibição do crescimento micelial e parcial com relação à germinação de conídios. Kresoxim methyl, azoxystrobin, pyraclostrobin+methiram, fenamidone e famoxadone+mancozeb apresentaram comportamento inibitório intermediário com relação ao crescimento micelial e inibição completa da germinação de conídios a partir de 1 µg.mL⁻¹. Chlorothalonil e mancozeb promoveram os menores níveis de inibição, porém apresentaram comportamento sempre superior à testemunha.

PALAVRAS-CHAVE: Fungo, inibição, *Lycopersicon esculentum* Mill.

ABSTRACT

IN VITRO ACTION OF FUNGICIDES ON MYCELIAL GROWTH AND CONIDIUM GERMINATION OF *ALTERNARIA SOLANI*, CAUSAL AGENT OF TOMATO EARLY BLIGHT. *In vitro* tests were carried out with the aim of evaluating the inhibitory action of 16 fungicides on the mycelial growth and conidium germination of *Alternaria solani*, causal agent of tomato early blight. The fungicides were tested in the concentrations of 0, 1, 10 and 100 µg.mL⁻¹ to both criteria, using the fungicide dilution in culture media and the cellophane techniques (NEELY, 1978), respectively. The best inhibition levels were obtained with specific fungicides that showed differential action on the different stages of the fungus life cycle. The fungicides iprodione, cyprodinil, procymidone, fluazinam, and pyrimethanil presented elevated inhibition levels for both criteria. Metconazole, tebuconazole, difenoconazole and prochloraz provided elevated inhibition of the micelial growth and partial inhibition in relation to conidium germination. Kresoxim methyl, azoxystrobin, pyraclostrobin+methiram, fenamidone and famoxadone+mancozeb presented intermediary inhibitory behavior of the growth micelial and complete inhibition of conidium germination starting from 1 µg.mL⁻¹. Chlorothalonil and mancozeb promoted the minor inhibition levels, however their action was always superior to the control.

KEY WORDS: Fungi, inhibition, *Lycopersicon esculentum* Mill.

INTRODUÇÃO

O fungo *Alternaria solani* (ELL. & Martin) Jones & Grout), agente causal da pinta preta do tomateiro, caracteriza-se por ser um dos principais patógenos desta solanácea sob condições de alta umidade e

temperaturas entre 25 e 30° C (KUROZAWA & PAVAN, 1997; VALE *et al.*, 2000).

A doença apresenta elevado potencial destrutivo, evidenciado por intensa redução de área foliar, declínio no vigor das plantas, quebra de hastes e depreciação de frutos (SHERF & MACNAB, 1986; JONES

² Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

et al. 1993). De maneira geral, a suscetibilidade a infecção está condicionada pela idade das plantas, amadurecimento dos tecidos e ao início do período de frutificação. Os primeiros sintomas são observados nas folhas mais velhas, que posteriormente evoluem para as partes mais novas da planta (MESSIAEN *et al.*, 1995; TELLO MARQUINA & DE LA VEGA, 1995).

A pinta preta pode apresentar elevados níveis de severidade, sob condições de alta temperatura e umidade, podendo atingir 60% da área foliar, bem como, causar podridão e reduções no tamanho e número de frutos comerciais (BASU, 1974). Ataques severos da doença podem causar destruição generalizada da área foliar expondo os frutos a queimaduras do sol (KUROZAWA & PAVAN, 1997).

No Brasil, a doença tornou-se importante a partir dos anos 50, quando houve a primeira grande expansão da cultura, sendo necessária a aplicação de fungicidas para o seu controle (BOFF, 1988). Avanços no desenvolvimento de fungicidas, ao longo dos últimos anos, tem proposto novos produtos para o controle da pinta preta. Tais fungicidas caracterizam-se por apresentarem perfil técnico diferenciado e pertencerem aos mais variados grupos químicos tais como: os ditiocarbamatos, as ftalonitrilas, os triazóis, as novas estrobilurinas entre outros (LACROIX & MERCER, 2001; UESUGI, 1998; GASZTONYI & LYR, 1995).

O conhecimento do potencial de inibição de fungicidas nas diferentes fases do ciclo de vida do patógeno visa esclarecer o modo de ação particular de cada produto, bem como, pode definir as estratégias de uso de um determinado produto. Devido à importância do controle químico no manejo da pinta preta do tomateiro o presente trabalho, teve por objetivo caracterizar a ação “*in vitro*” de diversos grupos fungicidas sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de *A. solani*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados e produção de conídios

Os isolamentos foram realizados a partir de folhas e haste com sintomas típicos da doença, coletadas em diferentes regiões produtoras de tomate do Estado de São Paulo. A caracterização dos diferentes isolados encontra-se descrita na Tabela 1.

A metodologia utilizada para a produção de conídios de *A. solani* foi a mesma adotada por TÓFOLI & KUROZAWA (1993). Os diferentes isolados foram cultivados em placas de Petri (Pyrex Cornor) contendo meio de cultura V8 (TUIITE, 1969) por 7 a 10 dias no escuro a 25° C. Em seguida, as colônias foram submetidas à raspagem do micélio, com auxílio de pincel e água destilada estéril, e incubadas sob fotoperíodo de 12 horas com luz negra (F-30 12/LN Sylvânia) distanciada 40 cm das placas, e temperatura de 18°C por 72 horas.

Ação de fungicidas no crescimento micelial

Discos de 0,5 cm de diâmetro dos isolados AST-01, AST-02, AST-03, AST-04 e AST-05 foram retirados dos bordos de colônias com sete dias de idade e transferidos para o centro de placas de Petri (nove cm de diâmetro) contendo BDA + fungicidas nas concentrações finais de 0, 1, 10 e 100 µg.mL⁻¹. Os fungicidas testados encontram-se caracterizados na Tabela 2. Os produtos foram incorporados no meio de cultura fundente, por meio de diluições em série. Após as repicagens, as placas foram incubadas em fotoperíodo de 12 horas, a 25° C por um período de oito dias.

A avaliação foi realizada por meio da medição dos diâmetros (cm) das colônias em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento a média das duas medidas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 4 repetições por concentração, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. Os dados foram analisados estatisticamente pela análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Ação de fungicidas na germinação de conídios

A ação de fungicidas sobre a germinação dos conídios foi realizada por meio de adaptação da metodologia descrita por NELLY (1978).

Discos de papel de filtro, com diâmetro de 0,8 cm, foram embebidos em suspensão de fungicidas nas concentrações de 0, 1, 10 e 100 µg.mL⁻¹ de ingrediente ativo e transferidos para placas de Petri. Posteriormente, foi colocado um disco de celofane semi-permeável de mesmo diâmetro sobre

Tabela 1 - Origem, cultivar/híbrido, órgão, época de isolamento e designação de isolados de *A. solani* empregados nos experimentos. São Paulo, 2001.

Origem	Cultivar/híbrido	Órgão	Isolamento (época)	Designação
Piedade - SP	Débora	folha	setembro de 2001	AST- 01
Bragança Paulista - SP	Jumbo	folha	outubro/2000	AST- 02
Socorro-SP	Débora	folha	março/2000	AST- 03
Sumaré - SP	Santa Clara	folha	março/2000	AST- 04
Indaiatuba - SP	Santa Clara	haste	fevereiro/2001	AST- 05

Tabela 2 - Caracterização geral dos 16 fungicidas utilizados nos diferentes experimentos.

Ingrediente Ativo	nome comercial	grupo químico	% de i.a.	modo de ação	mecanismo de ação
iprodione	Rovral SC	dicarboximida	50	sistêmico	provável ação sobre o núcleo/cromossomos
procymidone	Sumilex 500 PM		50		
tebuconazole	Folicur 200 CE		20		
difenoconazole	Score	triazol	25	sistêmico	Inibição da síntese de esterol
metconazole	Caramba 90		09		
prochloraz	Sportak 450 CE	imidazol	45		
azoxystrobin	Amistar 500 WG		50		
kresoxim methyl	Stroby SC	estrobilurina	50	sistêmico	inibição da respiração mitocondrial
fenamidone	Censor	imidazolinona	50		
pyraclostrobin+ methiram	Cabrio Top	estrobilurina+ ditiocarbamato	5+55	sistêmico/ contato	inibição da respiração mitocondrial/ inibição de grupos sulfidrilos
famoxadone + mancozeb	Midas BR	oxazolidinediona ditiocarbamato	6,25+62,5	contato/ contato	inibição da respiração mitocondrial/ inibição de grupos sulfidrilos
fluazinam	Frowncide 500 SC	piriminamina	50	contato	desacoplador da fosforilação oxidativa
pyrimethanil	Mythos		30		
cyprodinil*	-	anilino pirimidina	50	sistêmico	inibição enzimática
mancozeb	Manzate 800	ditiocarbamato	80	contato	inibição de grupos sulfidrilos
chlorothalonil	Bravonil Ultrex	ftalonitrila	82,5	contato	inibição de grupos sulfidrilos

* Produto em desenvolvimento.

cada disco de papel tratado, sobre o qual foi depositado 10 mL de uma suspensão contendo 10^3 conídios de *A. solani*/mL dos isolados AST-01, AST-03 e AST-04. As placas foram mantidas em câmara tipo BOD por 24 horas a 25°C e ausência de luz. Em seguida, os discos de celofane inoculados foram transferidos para lâminas de vidro e avaliados em microscópio óptico, quanto à inibição da germinação dos conídios. Foram considerados conídios germinados aqueles que apresentassem tubos germinativos iguais ou superiores ao comprimento do conídio analisado. As contagens foram realizadas em 30 discos, provenientes de três placas de Petri com 10 discos/concentração em cada tratamento. Os dados foram transformados em porcentagens de inibição da germinação de conídios em relação à testemunha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes fungicidas e misturas apresentaram comportamento diferenciado quanto aos critérios: inibição do crescimento micelial e germinação de conídios de *A. solani*, sendo sempre superiores à testemunha, independente da concentração utilizada (Fig. 1 e Fig. 2). Os maiores níveis de inibição foram observados para os produtos com maior

fungitoxicidade e especificidade, em detrimento dos fungicidas de contato e múltiplos sítios de ação. Em geral, os fungicidas apresentaram potenciais de inibição crescente em função do aumento da concentração do ingrediente ativo, não sendo observadas diferenças significativas entre um determinado fungicida e os diferentes isolados testados (Tabelas 3, 4, 5, 6, 7, 8).

Os fungicidas tebuconazole, difenoconazole, fluazinam, iprodione, prochloraz, procymidone, pyrimethanil, e metconazole apresentaram as maiores porcentagens inibitórias do crescimento micelial atingindo de 70 a 80% a partir de $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e inibição total a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, para todos os isolados testados. Cyprodinil proporcionou níveis de inibição média de 63,4 e 92,4% nas concentrações de 1 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

Kresoxim methyl, azoxystrobin, fenamidone, pyraclostrobin+methiram e famoxadone + mancozeb proporcionaram comportamento intermediário de inibição. Os fungicidas kresoxim methyl, azoxystrobin e famoxadone + mancozeb, pertencentes ao grupo dos inibidores do processo respiratório, proporcionaram uma faixa de 40 a 50% de inibição a $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e média de 75% a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, evidenciando-se baixo incremento na inibição pelo aumento da concentração do ingrediente ativo. A mistura pyraclostrobin+methiram e

fenamidone, apesar de apresentarem comportamento intermediário, apresentaram melhores respostas ao aumento da concentração do ingrediente ativo atingindo uma faixa de 76% de inibição a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Mancozeb e chlorothalonil proporcionaram os menores níveis de inibição do crescimento micelial, sendo porém sempre superiores à testemunha.

Quanto ao isolado AST-05, proveniente de haste, verificou-se que os fungicidas apresentaram menor potencial inibitório, entretanto, a mesma tendência de inibição observada para os isolados de folha (Tabela 7).

Os fungicidas fluazinam, iprodione, procymidone, kresoxim methyl, azoxystrobin, pyrimethanil, cyprodinil, fenamidone e as misturas pyraclostrobin + methiram e famoxadone + mancozeb apresentaram inibição total da germinação de conídios a partir de 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Tabela 8, Fig. 2).

Tebuconazole, difenoconazole, metconazole e prochloraz proporcionaram inibição parcial neste critério, sendo observada a emissão de tubos germinativos em todas as concentrações estudadas. No entanto, verificou-se significativa redução no crescimento destes em função do aumento da concentração fungicida, atingindo 100% de inibição a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Chlorothalonil e mancozeb apresentaram comportamento semelhante ao observado para o critério crescimento micelial.

Os fungicidas fluazinam, iprodione, cyprodinil, procymidone e pyrimethanil apresentaram elevado nível de inibição para ambos critérios avaliados. Os fungicidas inibidores do processo respiratório (kresoxim methyl, azoxystrobin, fenamidone, pyraclostrobin + methiram, e famoxadone + mancozeb) apresentaram significativa superioridade para o critério germinação de conídios, enquanto que os inibidores da síntese de esteróis (tebuconazole, difenoconazole, metconazole e prochloraz) destacaram-se em relação ao critério crescimento micelial. Chlorothalonil e mancozeb apresentaram potencial de inibição semelhante para os dois tipos de inóculo.

Parte destes resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com as observações de alguns autores. CHOUHWAR *et al.* (1989) e BOVEDA (1986) verificaram elevado efeito inibitório do crescimento micelial de *A. solani* com os fungicidas procymidone e iprodione, entre outros. BRIGNANI NETO & OLIVEIRA (1980) observaram inibição menos acentuada de *A. solani* por chlorothalonil em relação a outros fungicidas como propineb, hidantoína (iprodione), captafol e oxicloreto de cobre. Estudo realizado por FANCELLI (1991) verificou elevados níveis de inibição do crescimento micelial de isolados de *Alternaria solani* de tomate e batata com os fungicidas tebuconazole, difenoconazole e

iprodione. O alto poder inibitório do fungicida pyrimethanil a partir de 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, observado para os diferentes critérios estudados também é destacado por GASZTONYI & LYR (1995).

Com exceção de fluazinam, as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, quer conjuntas ou isoladas, foram obtidas com fungicidas específicos caracterizados por apresentar sistemicidade, alta fungitoxicidade e elevado poder inibitório em baixas concentrações de ingrediente ativo.

Os fungicidas mancozeb e chlorothalonil, típicos fungicidas de contato, apresentaram os menores níveis de inibição devido à sua baixa fungitoxicidade inerente. O fluazinam, apesar de apresentar ação de contato, apresentou elevado potencial inibitório do crescimento micelial e germinação de *A. solani* a partir de 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, sendo superior a mancozeb e chlorothalonil. Tal fato pode ser justificado pelo diferente modo de ação apresentado por estes fungicidas. Enquanto, fluazinam atua como desacoplador da fosforilação oxidativa (processo de respiração), os fungicidas mancozeb e chlorothalonil, atuam a nível enzimático (GHINI & KIMATI, 2000).

A menor sensibilidade apresentada pelo isolado de haste (AST-05) aos fungicidas testados, sugere a ocorrência de variabilidade na população de *A. solani*. BRIGNANI NETO & OLIVEIRA (1980) verificaram fato semelhante com isolados de *A. solani* de batateira, obtidos a partir de diferentes de órgãos da planta.

A diferença de inibição entre crescimento micelial e germinação de conídios, observada nos fungicidas inibidores do processo respiratório deve-se, provavelmente, ao mecanismo de ação destes fungicidas. As estrobirulinas, oxazolidinedionase e imidazolinonas atuam por meio da inibição da respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c_1 (Complexo III) impedindo a formação de ATP e conseqüentemente a produção de energia (LEROUX, 1996; YPEMA & GOLD, 1999). Os conídios para germinarem demandam alta energia que é obtida pelas vias respiratórias convencionais inibidas por estes fungicidas. O micélio, por sua vez, além das vias respiratórias convencionais pode gerar energia por vias alternativas e por glicólise. A energia gerada pelas vias alternativas é limitada, no entanto pode ser suficiente para que o micélio cresça por algum espaço de tempo, mesmo após o contato com o fungicida.

O fato dos inibidores da síntese de ergosterol apresentarem ação parcial sobre a germinação de conídios, não compromete a ação destes produtos, pois possíveis penetrações do patógeno em tecidos tratados podem ser prontamente inibidas em função das características sistêmicas e ação curativa destes fungicidas.

Tabela 3 - Ação de concentração final de fungicidas no crescimento micelial de *A. solani* (isolado AST-01), avaliado por meio do diâmetro das colônias (cm) e porcentagem de inibição aos 7 dias após a repicagem.

Tratamentos	1 µg.mL ⁻¹		10 µg.mL ⁻¹		100 µg.mL ⁻¹	
	Diâmetro (cm)*	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição
buconazole	1,23 e**	83,60	0,23 e	96,90	0,00 f	100,00
difenoconazole	1,13 e	90,00	0,27 e	96,40	0,00 f	100,00
fluazinam	0,80 efg	89,40	0,23 e	96,90	0,00 f	100,00
iprodione	0,90 efg	88,00	0,27 e	96,40	0,00 f	100,00
prochloraz	0,53 gh	93,00	0,10 e	98,70	0,00 f	100,00
procymidone	0,40 h	94,70	0,006 e	99,20	0,00 f	100,00
kresoxim methyl	3,50 c	53,40	3,00 b	60,00	1,67 de	77,80
azoxystrobin	4,00 b	46,80	3,40 b	54,70	1,87 de	75,20
pyrimethanil	0,63 fgh	91,00	0,30 e	96,00	0,00 f	100,00
cyprodinil	2,00 d	73,40	0,50 e	93,30	0,10 f	98,00
fenamidone	3,26 c	56,60	1,83 d	75,60	1,43 e	81,00
pyraclostrobin + methiram	3,36 c	55,30	2,26 cd	69,90	2,10 cd	72,10
famoxadone+mancozeb	4,16 b	42,20	3,00 bc	60,00	2,50 bc	66,80
metconazole	1,00 ef	86,70	0,23 e	96,90	0,00 f	100,00
mancozeb	4,16 b	44,70	3,43 b	61,88	2,81 b	62,40
chlorothalonil	4,43 b	41,10	3,06 bc	59,20	2,73 b	69,60
testemunha	7,52 a	0,00	7,50 a	0,00	7,53 a	0,00
CV(%)	5,02		8,12		9,63	

*Média original de 4 repetições por concentração.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Tabela 4 - Ação de concentração final fungicidas no crescimento micelial de *A. solani* (isolado AST-02), avaliado por meio do diâmetro das colônias (cm) e porcentagem de inibição aos 7 dias após a repicagem.

Tratamentos	1 µg.mL ⁻¹		10 µg.mL ⁻¹		100 µg.mL ⁻¹	
	Diâmetro (cm)*	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição
tebuconazole	1,83 f**	75,70	1,00 f	86,70	0,00 f	100,00
difenoconazole	1,73 fg	77,00	0,93 f	87,70	0,00 f	100,00
fluazinam	1,27 fgh	83,10	0,00 g	100,00	0,00 f	100,00
iprodione	1,37 fgh	81,80	0,20 g	97,40	0,00 f	100,00
prochloraz	1,00 ghi	86,70	0,33 g	94,60	0,00 f	100,00
procymidone	0,36 i	95,20	0,003 g	96,00	0,00 f	100,00
kresoxim methyl	3,83 cd	49,10	2,50 cd	56,60	2,00 c	64,90
azoxystrobin	3,93 cd	47,80	3,00 bc	55,80	1,93 cd	63,60
pyrimethanil	0,77 hi	89,80	0,23 g	97,00	0,000 f	100,00
cyprodinil	3,16 de	58,00	1,93 e	74,40	1,30 e	82,70
fenamidone	2,87 e	61,90	1,93 e	74,40	1,50 de	80,00
pyraclostrobin+methiram	3,50 cde	53,50	2,17 de	71,20	1,90 cd	74,70
famoxadone+mancozeb	4,16 c	44,80	3,17 b	58,00	2,67 b	64,90
metconazole	0,80 hi	89,40	0,16 g	97,90	0,000 f	100,00
mancozeb	4,26 bc	43,40	3,27 b	66,80	2,53 b	73,30
chlorothalonil	5,00 b	33,60	3,33 b	60,20	2,73 b	74,30
testemunha	7,53 a	0,00	7,54 a	0,00	7,50 a	0,00
CV(%)	8,42		8,27		8,00	

*Média original de 4 repetições por concentração.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Tabela 5 - Ação de concentração final de fungicidas no crescimento micelial de *A. solani* (isolado AST-03), avaliado por meio do diâmetro das colônias (cm) e porcentagem de inibição aos 7 dias após a repicagem.

Tratamentos	1 µg.mL ⁻¹		10 µg.mL ⁻¹		100 µg.mL ⁻¹	
	Diâmetro (cm)*	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição
tebuconazole	1,30 e**	82,60	0,63 def	91,50	0,00 f	100,00
difenoconazole	1,33 e	82,20	0,50 def	93,30	0,00 f	100,00
fluazinam	0,57 f	92,40	0,36 def	95,20	0,00 f	100,00
iprodione	0,83 ef	88,90	0,26 f	96,50	0,00 f	100,00
prochloraz	1,40 e	81,20	1,96 cdef	73,60	0,00 f	100,00
procymidone	1,03 ef	86,20	0,30 ef	96,00	0,00 f	100,00
kresoxim methyl	4,00 c	46,40	3,47 bc	52,90	2,06 c	58,90
azoxystrobin	4,33 b	42,00	4,53 b	55,20	2,30 c	60,20
pyrimethanil	0,83 ef	88,90	0,20 f	97,30	0,000 f	100,00
cyprodinil	2,67 d	64,20	2,40 cd	67,70	1,33 de	82,20
fenamidone	2,93 d	60,70	1,50 cdef	79,80	1,17 e	84,30
pyraclostrobin+methiram	3,17 d	57,50	2,33 cde	68,60	1,83 cd	75,50
famoxadone+mancozeb	4,17 c	44,10	2,40 cd	67,70	2,27 c	69,60
metconazole	1,27 ef	83,00	0,17 f	97,70	0,000 f	100,00
mancozeb	5,20 b	30,30	3,50 bc	53,30	3,07 b	72,40
chlorothalonil	5,50 b	26,30	3,33 bc	39,00	2,87 b	69,20
testemunha	7,46 a	0,00	7,43 a	0,00	7,47 a	0,00
CV(%)	7,62		8,13		10,39	

*Média original de 4 repetições por concentração.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Tabela 6 - Ação de concentração final de fungicidas no crescimento micelial de *A. solani* (isolado AST-04), avaliado por meio do diâmetro das colônias (cm) e porcentagem de inibição aos 7 dias após a repicagem.

Tratamentos	1 µg.mL ⁻¹		10 µg.mL ⁻¹		100 µg.mL ⁻¹	
	Diâmetro (cm)*	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição
tebuconazole	1,17 f**	84,30	0,20 f	97,30	0,00 e	100,00
difenoconazole	1,00 f	86,60	0,10 f	98,70	0,00 e	100,00
fluazinam	0,46 f	93,80	0,10 f	98,70	0,00 e	100,00
iprodione	0,50 f	93,30	0,00 f	100,00	0,00 e	100,00
prochloraz	1,00 f	86,60	0,00 f	100,00	0,00 e	100,00
procymidone	0,76 f	89,80	0,00 f	100,00	0,00 e	100,00
kresoxim methyl	3,66 cd	49,00	3,17 c	57,80	2,30 c	69,30
azoxystrobin	3,83 cd	48,70	2,83 cd	62,30	2,66 c	64,50
pyrimethanil	0,57 f	92,40	0,20 f	97,30	0,000 e	100,00
cyprodinil	2,57 e	65,50	0,43 f	94,30	0,000 e	100,00
fenamidone	3,06 de	59,00	1,67 e	77,80	1,00 d	86,70
pyraclostrobin+methiram	3,30 cde	55,80	2,00 e	73,40	1,47 d	80,40
famoxadone+mancozeb	4,00 c	46,40	2,33 de	69,00	2,27 c	69,70
metconazole	1,10 f	85,20	0,10 f	98,70	0,0 e	100,00
mancozeb	5,83 b	21,90	4,83 b	35,70	3,57 b	52,40
chlorothalonil	5,60 b	25,00	5,17 b	31,20	4,00 b	46,70
testemunha	7,47 a	0,000	7,51 a	0,00	7,50 a	0,00
CV(%)	10,17		12,15		8,52	

* Média original de 4 repetições.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Tabela 7 - Ação de concentração final de fungicidas no crescimento micelial de *A. solani* (isolado AST-05), avaliado por meio do diâmetro das colônias (cm) e porcentagem de inibição aos 7 dias após a repicagem.

Tratamentos	1 µg.mL ⁻¹		10 µg.mL ⁻¹		100 µg.mL ⁻¹				
	Diâmetro (cm)*	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição	Diâmetro (cm)	% de inibição			
tebuconazole	2,43	ghi	68,30	1,60	f	78,20	0,33	e	95,80
difenoconazole	2,33	hi	69,60	1,43	f	81,30	0,00	e	100,00
fluazinam	1,76	i	77,10	1,17	f	84,70	0,17	e	97,80
iprodione	2,00	i	73,90	1,00	f	87,00	0,60	e	92,30
prochloraz	2,00	i	73,90	1,06	f	86,20	0,00	e	100,00
procymidone	1,50	i	80,40	1,13	f	85,30	0,00	e	100,00
kresoxim methyl	4,66	cde	39,20	4,17	cde	45,60	3,00	c	61,70
azoxystrobin	4,83	bcde	37,00	3,87	de	49,50	3,50	bc	55,30
pyrimethanil	1,73	i	77,40	1,50	f	80,40	0,00	e	100,00
cyprodinil	3,23	fgh	57,90	1,53	f	80,00	0,00	e	100,00
fenamidone	4,16	def	45,80	4,33	bcd	43,50	1,83	d	79,00
pyraclostrobin+methiram	3,63	efg	52,70	3,18	e	58,50	2,00	d	74,00
famoxadone+mancozeb	5,00	bcd	34,80	3,80	de	50,40	3,20	c	59,10
metconazole	1,33	i	82,70	1,30	f	83,00	0,00	e	100,00
mancozeb	6,00	b	21,80	5,18	bc	32,40	3,83	bc	51,10
chlorothalonil	5,83	bc	24,00	5,27	b	31,20	4,33	b	44,70
testemunha	7,67	a	0,00	7,66	a	0,00	7,83	a	0,00
CV(%)	10,002		10,59		8,22				

*Média original de 4 repetições por concentração.

**Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade

Tabela 8 - Porcentagens de inibição da germinação de conídios de *A. solani* isolados AST-01, AST-03 e AST-04, frente a 4 diferentes grupos fungicidas nas concentrações de 1, 10 e 100 µg.mL⁻¹.

Tratamentos	Concentrações/Isolados								
	1µg.mL ⁻¹			10 µg.mL ⁻¹			100 µg.mL ⁻¹		
	AST-01	AST-03	AST-04	AST-01	AST-03	AST-04	AST-01	AST-03	AST-04
tebuconazole	45,50	32,50	35,00	52,40	55,20	62,25	100,00	100,00	100,00
difenoconazole	52,25	64,60	42,80	68,00	77,25	56,50	100,00	100,00	100,00
fluazinam	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
iprodione	72,50	84,50	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
prochloraz	62,50	52,50	68,50	72,25	62,50	76,40	100,00	100,00	100,00
procymidone	85,40	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
kresoxim methyl	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
azoxystrobin	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pyrimethanil	95,50	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
cyprodinil	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
fenamidone	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pyraclostrobin+methiram	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
famoxadone+mancozeb	85,00	100,00	92,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
metconazole	50,40	44,60	64,20	70,25	76,50	100,00	100,00	100,00	100,00
mancozeb	35,20	46,40	41,25	50,75	64,50	69,00	75,00	67,00	62,30
chlorothalonil	42,50	49,20	68,50	50,25	54,10	62,50	62,10	65,60	72,40
testemunha	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

* Os dados transformados em porcentagem de inibição em relação à testemunha - média de 25 lâminas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASU, P.K. Measuring early blight, its progress and influence on fruit losses in nine tomato cultivars. *Can. Plant Dis.*, v.54, p.45-51, 1974.
- BOFF, P. Epidemiologia e controle químico da mancha de estenfilio (*Stemphylium solani* Weber) e da pinta preta (*Alternaria solani* (Ellis, Martin) Jones, Groul) em dois sistemas de condução do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). Viçosa: 1988. 192p. [Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa].
- BOVEDA, R.R.V. *Morfologia, patogenicidade, esporulação e sensibilidade a fungicidas in vitro de Alternaria solani e Alternaria alternata*. Piracicaba: 1986. 106p. [Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo].
- BRIGNANI NETO, F. & OLIVEIRA, D.A. Influência de diferentes fungicidas sobre o crescimento de *Alternaria solani* (Ell, Martin) Jones, Groul, "in vitro". *O Biológico*, São Paulo, v.46, p.101-106, 1980.
- CHOUHWAR A.B.; DATAR, V.V.; KURUNDAKAR, B.P. Efficacy of fungitoxicants on the mycelial growth of *Alternaria solani*. *Pestology*, v.13, p.17-19, 1989.
- GASZTONYI, M. & LYR, H. Miscellaneous fungicides. In LYR, H. (Ed) *Modern Selective Fungicides*. Jena: Gustaf Fisher, 1995. p.389-414.
- FANCELLI, M.I. Comparação patogênica, cultural, serológica e eletroforética entre isolados de *Alternaria solani* do tomate e da batata e variabilidade patogênica de *Alternaria solani* f. sp. *lycopersici* N. F. Piracicaba: 1991. 80p. [Tese (Doutorado) - Universidade São Paulo].
- GHINI, R. & KIMATI, H. *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente. 2000. Mecanismo de ação dos fungicidas, p.31-36.
- JONES, J.B.; STALL, R.E.; ZITTER, T.A. *Compendium of tomato diseases*. St. Paul: APS, 1993. 73p.
- KUROZAWA, C. & PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.). *Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.690-719.
- Lacroix, G. & MERCER, R. *Fungicide Fenomen*. Technical Bulletin, 2001. 35p.
- LEROUX, P. Recent developments in the mode action of fungicides. *Pesticide Science*, v.47, p.191-197, 1996.
- MESSIAEN, C.; BLANCARD, D.; RUXEL, F.; LAFON, R. *Enfermedades de las hortalizas*. Madrid: Ediciones Mundi Prensa, 1995. 576 p.
- NEELY, D. *Laboratory and greenhouse procedures methods for evaluation fungicides, nematocides and bactericides*. Minnesota: American Phytopathological Society, 1978, 140p.
- SHERF, A.F. & MACNAB, A.A. *Vegetable disease and their control*. Wiley Intercience Publication, 1986. 728p.
- TELLO MARQUINA, J.C.; DE LA VEGA, J.D.M. Enfermedades no vîricas del tomate. In: NÚEZ, F. (coord.). *El cultivo del tomate*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. p.523-563, 1995.
- TÖFOLI, J.G.; KUROZAWA, C. Efeito de três meios de cultura e duas temperaturas na produção de conídios de *Alternaria solani*. *Summa Phytopat.*, Jaboticabal, v.19, p.41, 1993.
- TUITE, J. *Plant pathological methods*. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1969. 239p.
- UESUGI, Y. Fungicides classes. Chemistry, uses and mode of action. In: HUTSON D. & MYAMAMOTO, J. *Fungicidal activity*. 1998. p.23-53.
- YPEMA, H.L., GOLD, R.E. Kresoxim methyl: modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. *Phytopatology*, v.83, p. 4-19, 1999.
- VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L.; PAUL, P.A.; COSTA, H. Doenças causadas por fungos em tomate In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA, H. (Eds) *Controle de doenças de plantas - Hortalças*. Viçosa:UFV, 2000. p.699-755.

Recebido em 19/3/03

Aceito em 23/9/03