



THAYSSA VILELA MIGUEL

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BATATA A
DIFERENTES ISOLADOS DE *Alternaria* spp.**

LAVRAS – MG

2012

THAYSSA VILELA MIGUEL

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BATATA A DIFERENTES ISOLADOS
DE *Alternaria* spp.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Elaine Aparecida de Souza

Coorientadora

Dra. Silvia Regina Rodrigues de Paula Ribeiro

LAVRAS – MG

2012

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Miguel, Thayssa Vilela.

Reação de genótipos de batata a diferentes isolados de
Alternaria spp. / Thayssa Vilela Miguel. – Lavras : UFLA, 2012.
54 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Elaine Aparecida de Souza.

Bibliografia.

1. *Alternaria solani*. 2. *Alternaria grandis*. 3. Pinta preta. 4.
Resistência. 5. Agressividade. 6. Compatibilidade micelial. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.532

THAYSSA VILELA MIGUEL

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE BATATA A DIFERENTES ISOLADOS
DE *Alternaria* spp.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2012.

Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto UFLA

Dra. Silvia Regina Rodrigues de Paula Ribeiro UFLA

Dra. Marciane da Silva Oliveira UFV

Dra. Elaine Aparecida de Souza

Orientadora

LAVRAS – MG

2012

Aos meus pais, pelo amor incondicional.
À Sofhia, minha irmã, pelo carinho e cumplicidade.
Ao meu esposo, Diego, pelo exemplo de amor e dedicação
e a minha inesquecível avó(in memoriam), pela certeza do meu sucesso

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelas oportunidades e pela proteção, em todos os momentos de minha vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelo conhecimento adquirido.

Ao professor Eduardo Mizubuti, da UFV, por ceder os isolados de *Alternaria grandis* para a realização deste estudo.

À professora Elaine, minha orientadora, pela tolerância, disponibilidade, conhecimentos transmitidos e, acima de tudo, pelo exemplo de profissionalismo. Você fez a diferença!

A Silvia, minha coorientadora, pela valiosa ajuda e pela amizade construída nesse tempo.

A Marciane, por aceitar o meu convite para participar da banca e por todo o ensinamento transmitido no começo de tudo.

Ao professor César Brasil, pela participação na banca, disponibilidade, confiança e contribuição a este trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, pela troca de experiências, amizade e companheirismo. Em especial à Mariana, pela disponibilidade em me ajudar nos experimentos. Sua ajuda e amizade foram essenciais.

Aos colegas do Laboratório de Genética Molecular, em especial ao Lamartine, por todo carinho, atenção e ensinamentos práticos.

Ao professor José Eduardo, pela confiança em disponibilizar o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Biotecnologia. Ao Evaldo, pelos ensinamentos práticos, paciência, atenção e disponibilidade em me ajudar na

condução dos experimentos. A todos os amigos que fiz, em especial Helena e Mari, pelo companheirismo.

Ao Laboratório de Patologia de Sementes, pela disponibilidade e ajuda.

Aos funcionários do DBI, em especial a Dona Ironдина, Dona Sebastiana (Du) e Helô, pelo companheirismo e torcida, e ao Raimundo, pela ajuda e disponibilidade.

Ao meu amado pai, meu herói, exemplo de dignidade, a quem devo tudo que sou hoje. Sem ele eu não teria chegado até aqui. Sempre farei tudo por você.

A minha querida e amada mãe, pela presença constante, por me mostrar o lado bom de cada situação e, acima de tudo, por sempre ter acreditado na minha capacidade. Meu amor por você é incondicional.

A Sofia, irmã querida, pelo carinho, otimismo e companheirismo. Amo você!

Ao Diego, meu esposo, por toda paciência, confiança e apoio incondicional; por todo o incentivo nos momentos de fraqueza e de medo, e, acima de tudo, pelo amor dedicado. Amo você!

A toda a minha família, pelo carinho e compreensão pelos momentos em que precisei estar ausente.

Aos amigos e amigas da UFLA, pelo companheirismo e amizade. Em especial, Lilian e Paulinho. Vocês tornaram a caminhada menos árdua. Aos amigos e amigas de uma vida toda, pela paciência e compreensão nos momentos de ausência.

Agradeço a todos os que contribuíram de alguma forma para a concretização deste sonho, principalmente àqueles que sempre acreditaram em mim.

Maior que a tristeza de não haver vencido é a vergonha de não ter lutado.

Ruy Barbosa

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar, *in vitro*, a reação de genótipos de batata à pinta-preta e comparar as espécies *Alternaria grandis* e *Alternaria solani*, agentes etiológicos da doença, por meio da avaliação de características fisiológicas. Foram avaliados 22 genótipos do Programa de Melhoramento Genético de Batata da UFLA, sendo duas cultivares, Aracy e Bintje, padrões de resistência e suscetibilidade, respectivamente. Foram utilizados, na inoculação, três isolados de *A. grandis* e dois isolados de *A. solani*. As plântulas, obtidas *in vitro*, foram inoculadas com um disco micelial de 5 mm de diâmetro dos isolados de *Alternaria* spp. Estas foram incubadas e classificadas quanto à severidade, de acordo com a escala de notas proposta por Van der Waals, Korsten e Slippers (2004). Os isolados de *Alternaria* spp. foram avaliados quanto ao índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e a formação de grupos de compatibilidade micelial (GCM). A metodologia de avaliação precoce *in vitro* da reação dos genótipos à severidade da pinta-preta foi eficiente tanto para isolados de *A. grandis* quanto para isolados de *A. solani*. Os isolados de *A. grandis* e *A. solani* apresentaram comportamento semelhante quanto à agressividade. Os isolados de *A. grandis* apresentaram IVCMs superiores e, portanto, crescimento micelial mais rápido, quando comparados aos isolados de *A. solani*. A ocorrência de compatibilidade micelial entre isolados de *A. grandis* e *A. solani* indica a possível ocorrência do ciclo parassexual.

Palavras-chave: *Alternaria solani*. *Alternaria grandis*. Compatibilidade micelial. Agressividade. Resistência à pinta preta.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate *in vitro* the reaction of potato genotypes to the severity of early blight and compare the species *Alternaria solani* and *Alternaria grandis*, etiologic agents of disease, through the evaluation of physiological characteristics. Twenty-two genotypes of the Potato Breeding Program for UFLA, two cultivars, Bintje and Aracy, patterns of resistance and susceptibility, respectively were evaluated. For inoculation, three isolates of *A. grandis* and two isolates of *A. solani* were used. The plantlets obtained *in vitro* were inoculated with a mycelial disk 5mm diameter of isolates of *Alternaria* spp. These were incubated in severity and classified according to the rating scale proposed by Van der Waals, Korsten e Slippers (2004). The isolates of *Alternaria* spp. were evaluated for mycelial growth index (MGI) and the formation of mycelial compatibility groups (MCG). The methodology for evaluating the *in vitro* reaction of genotypes to the severity of early blight was efficient for both isolates. The isolates of *A. solani* and *A. grandis* were similar in their aggressiveness. The isolates of *A. grandis* MGI's had higher, and therefore mycelium grew faster when compared to those isolated from *A. solani*. The occurrence of mycelial compatibility among isolates of *A. solani* and *A. grandis* indicates the possible occurrence of parasexual cycle.

Keywords: *Alternaria solani*. *Alternaria grandis*. Mycelial compatibility. Aggressiveness. Resistance to early blight.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	A importância da cultura da batata para a agricultura	13
2.2	A pinta preta da batata	13
2.3	Os agentes etiológicos da pinta preta	15
2.4	Grupos de Compatibilidade Micelial (GCM)	19
2.5	Variabilidade patogênica de <i>A. solani</i> e <i>A. grandis</i>	21
2.6	A resistência à pinta preta	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	Avaliação <i>in vitro</i> da reação de genótipos de batata à severidade da pinta preta	27
3.1.1	Obtenção e manutenção dos isolados de <i>Alternaria</i> spp.	27
3.1.2	Obtenção <i>in vitro</i> das plântulas de batata	28
3.1.3	Inoculação <i>in vitro</i> dos patógenos <i>A. solani</i> e <i>A. grandis</i>	29
3.1.4	Avaliação <i>in vitro</i> da reação de genótipos de batata à severidade da pinta preta	29
3.2	Comparação entre as espécies <i>A. solani</i> e <i>A. grandis</i>	30
3.2.1	Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)	30
3.2.2	Grupos de compatibilidade micelial (GCM)	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1	Avaliação <i>in vitro</i> da reação de genótipos de batata à severidade da pinta preta	32
4.2	Comparação entre as espécies <i>A. solani</i> e <i>A. grandis</i>	37
4.2.1	Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)	37
4.2.2	Grupos de compatibilidade micelial (GCM's)	42
5	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A pinta-preta é uma das principais doenças fúngicas da batata (*Solanum tuberosum* L.) e de outras solanáceas. Até 2009, acreditava-se que a pinta-preta em batata, no Brasil, fosse causada apenas pelo patógeno *Alternaria solani*, porém, após estudos realizados, foi constatada a presença da espécie *Alternaria grandis* associada à doença (RODRIGUES et. al., 2010).

A pinta-preta caracteriza-se por causar grande redução da área foliar, queda do vigor das plantas e tubérculos, sendo responsável por perdas consideráveis na produtividade dessa cultura nas regiões de cultivo em todo o mundo.

Alternaria spp. apresenta o ciclo de vida curto, favorecendo o seu rápido desenvolvimento e o progresso da doença. Dessa forma, a pinta-preta é uma doença de difícil controle (STRANDBERG, 1992). Entre as medidas de controle, a resistência genética torna-se a estratégia mais eficaz e promissora, pela redução dos custos de produção e menor impacto ambiental. A avaliação para resistência à pinta-preta é, normalmente, realizada em campo, onde as plantas são submetidas tanto à infecção natural quanto à inoculação artificial, por suspensão de conídios (NACHMIAS et al., 1988). Entretanto, esta última é limitada pela dificuldade em se produzir esporos suficientes do patógeno para a inoculação em larga escala.

No Programa de Melhoramento Genético de Batata da Universidade Federal de Lavras (UFLA) manipula-se um grande número de clones. No entanto, a avaliação de todos estes em campo é dificultada pela obtenção de grande quantidade de inóculo, dependência de condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença e época de inoculação (60 a 80 dias após o plantio). Sendo assim, a utilização de uma estratégia eficiente de inoculação artificial permitirá a realização da seleção precoce em larga escala, visando à

resistência à pinta-preta. A partir desses clones selecionados *in vitro* poderão ser feitas avaliações em campo, contribuindo, com rapidez, no processo de melhoramento para a obtenção de cultivares resistentes.

De acordo com o exposto, este trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar genótipos de batata do Programa de Melhoramento Genético de Batata da UFLA quanto à reação à pinta-preta e comparar os isolados das espécies *A. solani* e *A. grandis* quanto a características fisiológicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A importância da cultura da batata para a agricultura

A cultura da batata desempenha um papel importante no cenário agrônomico mundial. Além de sua importância econômica, tem um papel social relevante, em razão do grande número de pessoas envolvidas nos processos que compõem a atividade agrícola. É a terceira, em ordem de importância agrícola, no mundo. A produção mundial aumentou 20%, especialmente nos países em desenvolvimento (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2010).

A importância dessa cultura tende a aumentar para atender à crescente demanda alimentar da população. A cultura requer um constante desafio dos produtores, devido ao grande número de problemas fitossanitários que ocorrem durante todo o ciclo. Dentre os problemas fitossanitários, a pinta-preta é uma das doenças fúngicas de maior prevalência nos campos de produção (COUTO; TAVARES, 2002). Segundo estes mesmos autores, a descoberta de novas fontes de resistência e a aplicação de novas técnicas de controle à doença, aliadas a uma agricultura moderna e sustentável, têm assegurado a manutenção do potencial produtivo e sua qualidade, dentro das exigências do mercado.

2.2 A pinta-preta da batata

A pinta-preta é causada por espécies do gênero *Alternaria*. A doença ocorre, principalmente, em regiões de alta umidade e temperaturas elevadas (KUCZYNSKA, 1992). Caracteriza-se por grande redução da área foliar, queda do vigor das plantas e tubérculos e redução do potencial produtivo. (KWASNA, 1992; TOFOLI, 2004).

A penetração do patógeno pode ser direta ou indireta, através dos estômatos e ferimentos. Os sintomas, então, manifestam-se de três a cinco dias após a penetração (JONES et.al., 1993; ROTEM, 1994).

A doença pode ser observada em qualquer estágio da planta, porém, é mais severa em tecidos maduros e senescentes (DITA et al., 2006). Os sintomas aparecem, primeiramente, nas folhas mais baixas e velhas, com evolução para as partes mais altas da planta (TOFOLI, 2004). Logo que infectados, os tecidos doentes são rapidamente colonizados e as lesões são produzidas quando ocorre a esporulação, podendo levar à desfolha total das plantas, reduzindo o ciclo da cultura, resultando na produção de tubérculos pequenos (REIFSCHNEIDER, 1981).

Os sintomas em folhas são caracterizados por manchas necróticas pardo-escuras, com a presença de anéis concêntricos evidentes e bordos bem definidos. A região entre e ao redor das lesões apresenta-se clorótica. Lesões em tubérculos não são muito frequentes, porém, quando ocorrem, são escuras, deprimidas, circulares a irregulares, com bordos de cor púrpura ou bronzeada. A polpa sob a lesão é seca, coriácea e de cor amarela à castanha (REIFSCHNEIDER, 1981).

A pinta-preta é uma doença policíclica (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Sendo assim, quanto maior o número de plantas infectadas nos primeiros ciclos, maior será esse número nos ciclos secundários (JONES et.al., 1993). Nesse sentido, a doença pode aumentar em função do número de plantas disponíveis para infecção e subsequente produção de inóculo.

As primeiras infecções estão, normalmente, associadas à disponibilidade do inóculo primário ou inicial, que pode ser originado de plantas voluntárias, hospedeiros secundários ou restos de cultura, devido à presença de clamidósporos (VAN DER WAALS et al., 2003). Assim, devido ao ciclo de vida curto do patógeno, o inóculo secundário é produzido nas plantas infectadas muito rapidamente e disseminado, pelo vento, para outras culturas (STRANDBERG, 1992).

As medidas de controle da pinta-preta incluem rotação de culturas de três a cinco anos, aplicações rotineiras de fungicidas e uso de sementes livres do patógeno. A aplicação de fungicidas é a principal prática de controle adotada no mundo (STEVENSON, 1994) e trabalhos têm sido realizados visando estudar sua eficiência e efeitos sobre o patógeno. Shtienberg et al. (1995) estudaram a eficiência da aplicação de fungicidas na presença de plantas resistentes, não verificando diferenças significativas quanto ao número de aplicações, demonstrando a eficiência da resistência genética.

A utilização de fungicidas aumenta em cerca de 10% o custo de produção e existem relatos da perda de eficiência de muitos desses agentes químicos, devido à resistência do patógeno ao princípio ativo do produto (HOLM et al., 2003).

Diante do exposto, a resistência genética representa a medida mais eficaz e promissora de controle da pinta-preta, tanto pela redução dos custos de produção quanto pelo menor impacto ambiental.

2.3 Os agentes etiológicos da pinta-preta

De acordo com Fancelli (1991), o agente etiológico da pinta-preta foi descrito, pela primeira vez, por Ellis e Martin (1882), que propuseram a denominação de *Macrosporium solani*. No entanto, Wiltshire (1933) verificou que este nome deveria ser substituído por *Alternaria solani* Sorauer. Além de causar a pinta-preta em batata, causa a mesma doença em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e em outros membros da família Solanaceae.

No Brasil, até o ano de 2009, acreditava-se que a pinta-preta, em batata e tomate, era causada somente pela espécie *A. solani*. Porém, com base em estudos conduzidos por pesquisadores da Universidade Federal de Viçosa (UFV), juntamente com pesquisadores do Canadá, Estados Unidos e Embrapa

Hortaliças, outras espécies de *Alternaria* foram identificadas causando a doença. Isolados coletados de plantas de batata e tomate infectadas, provenientes de sete regiões brasileiras, no período de 2005 a 2008, foram comparados por meio de marcadores morfológicos e moleculares. Os resultados mostraram que todos os isolados de tomate foram identificados como *A. tomatophila*, os isolados de batata como *A. grandis* e nenhum isolado de *A. solani* foi identificado nas amostras (RODRIGUES et al., 2010). Das características morfológicas utilizadas para identificar espécies de *Alternaria*, as mais importantes são as dimensões dos conídios, as dimensões dos conidióforos e o número de bicos que cada conídio apresenta (RODRIGUES; MIZUBUTI, 2009).

A espécie *A. solani* apresenta conídios, quando jovens, de cor hialina, medindo, geralmente, 50 x 12 µm (comprimento e largura), alongados a ovoides, com septos variando de três a seis. Quando maduros, medem, geralmente, 90 x 24 µm, com 10 a 11 septos transversais e um a dois longitudinais. São lisos e tipicamente ovoides e têm coloração marrom. O bico possui de 5 a 8 µm de largura e de 40 a 80 µm de comprimento, podendo atingir até 150 µm. Conídios com um único bico afilado são predominantes na população de *A. solani*, porém, ocorrem conídios com dois bicos e, raramente, com três bicos. Os conídios são inseridos em conidióforos septados, retos ou sinuosos, geralmente com 50 x 10 µm e apresentam coloração idêntica à dos conídios (SIMMONS, 2000).

Os conídios de *A. grandis* são muito grandes, geralmente, de 50% a 100% maiores que os conídios de *A. solani*. O conídio típico tem corpo longo e estreito, com um a três bicos longos que nunca são uniformemente filiformes em toda a sua extensão. O tamanho dos conídios varia de acordo com a quantidade de bicos. Conídios contendo um bico possuem o corpo variando de 141-192 x 26-38 µm além do bico de 160-200 µm de comprimento e 6,4 µm de largura. Conídios com dois bicos têm corpos medindo 128-198 x 24-30 µm e os bicos de 99-160 µm e 88-128 µm. O corpo dos conídios possui de 11 a 19 septos

transversais e um a três longitudinais. Os conidióforos são escuros, septados e grandes, medindo 115-200 x 8-11 μm (SIMMONS, 2000).

Além das diferenças morfológicas dos conídios, *A. grandis* difere de *A. solani* pelo padrão de esporulação, apresentando maior capacidade na produção de esporos (SIMMONS, 2000). De acordo com o mesmo autor, a produção de conídios ocorre continuamente na parte inferior das folhas ou nos restos de cultura. Uma vez presentes na cultura, são dispersos pela ação da água, vento, trabalhadores, equipamentos, insetos e pelo contato e atrito de folhas saudáveis e infectadas. Além da sobrevivência por conídios, existe a possibilidade de o patógeno permanecer viável no solo na forma de micélio.

Quanto às características fisiológicas, a germinação de conídios é de grande importância nas etapas iniciais de desenvolvimento do patógeno na planta. Representa um processo que, juntamente com a penetração, afeta a adaptabilidade de um isolado. Já foi constatada variabilidade quanto à germinação de conídios em espécies de *A. solani* (MICHEREFF et al., 2003), porém, para *A. grandis*, nenhum relato foi encontrado.

Desde o ano 2000, quando a espécie *A. grandis* foi descrita, não há relatos de trabalhos sobre a biologia do patógeno e a epidemiologia da doença. Ainda são escassas as informações sobre essa espécie e em quais aspectos ela difere de *A. solani*, durante o processo de infecção. Até então, em experimentos realizados em casa de vegetação, plantas de batata inoculadas com as duas espécies apresentaram sintomas e intensidade de doença semelhantes (RODRIGUES; MIZUBUTI, 2009).

Assim como a germinação, o processo fisiológico de esporulação é de grande importância e é influenciado pela temperatura, a umidade relativa, a intensidade luminosa e o tipo de meio de cultura (FANCELLI, 1991). Uma característica observada em *A. solani* é a baixa ou mesmo ausência de esporulação em meio de cultura. A esporulação tem sido aumentada por

ferimentos no micélio (CHARLTON, 1953; DOUGLAS; PAVEK, 1971), cultivo em meio desidratado (CHARLTON, 1953; MCCALLAN; CHAN, 1944) ou utilização de aditivos químicos (MCCALLAN; CHAN, 1944; ELLERS; BAXTERS, 1974). Porém, além de não produzir um número suficiente de esporos para infectar um grande número de plantas, muitos desses procedimentos requerem um longo período (de 7 a 20 dias).

Há relatos de diversos meios de cultura que favorecem o crescimento micelial e estimulam a esporulação. Entre eles, destacam-se o de batata-dextrose-ágar (SHAHIN; SHEPARD, 1979; STRANDBERG, 1987), o de batata-ágar (STRIDER, 1978), o V8-ágar (STRIDER, 1978; STRANDBERG, 1987) e o de folha de cenoura-ágar (STRANDBERG, 1987). Porém, nenhuma dessas metodologias permitiu a esporulação suficiente para inoculação de *A. solani* em um grande número de plantas.

Com a dificuldade na produção de esporos em quantidade suficiente para inoculação em campo, os inóculos para esse fim são produzidos a partir de uma mistura de esporos e micélios de folhas infectadas secas (THIRTHAMALLAPPA; LOHITHASWA, 2000; PINTO; FARIA; LAMBERT, 2002). Essa metodologia, apesar de prática, não possibilita separar os isolados quanto à sua agressividade.

Van der Waals, Korsten e Slippers (2004) propuseram uma metodologia de inoculação em que discos miceliais do patógeno são inoculados em plântulas de batata obtidas por meio da cultura de tecidos. Essa metodologia é uma alternativa que pode ser eficiente na avaliação precoce da pinta-preta. Além de não utilizar suspensão de conídios como inóculo, pois a esporulação *in vitro* é difícil nesta espécie, permite a avaliação dos genótipos em larga escala, que é facilitada pelas vantagens da cultura de tecidos.

Com a finalidade de testar a viabilidade da metodologia proposta por Van der Waals, Korsten e Slippers (2004), Miguel et. al.(2009) avaliaram, *in*

vitro, plântulas de cinco clones do Programa de Melhoramento Genético da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e das cultivares Aracy e Bintje, padrões de resistência e suscetibilidade, respectivamente, quanto à reação à pinta-preta. Os resultados obtidos confirmaram o padrão observado em campo por Pinto, Faria e Lambert (2002) e Simon et al. (2009). Portanto, essa metodologia se mostrou promissora na avaliação precoce da pinta-preta em genótipos de batata.

2.4 Grupos de compatibilidade micelial (GCM)

Representantes do gênero *Alternaria* são caracterizados por serem mitospóricos ou imperfeitos, ou seja, não possuem a fase sexuada (LOGUERCIO-LEITE et al., 2004). Entretanto, populações de *A. solani* possuem ampla variabilidade genética, sendo destacada na morfologia, na fisiologia e na patogenicidade (VAN DER WAALS; KORSTEN; SLIPPERS, 2004), sugerindo a ocorrência de recombinação. Esse fato deve-se a vários mecanismos, dentre eles a ocorrência do ciclo parassexual (AZEVEDO, 2004). Para que ocorra a parassexualidade é necessário que diferentes isolados sejam compatíveis micelialmente, ou seja, que ocorra a extensão da ponta da hifa, ramificação e fusão, que poderá levar à formação de um heterocário (dois núcleos geneticamente distintos em um mesmo citoplasma) (GLASS et. al., 2004; GLASS; JACOBSE; SHIU, 2000).

A classificação dos diferentes isolados em grupos de compatibilidade micelial (GCM) indica a probabilidade de ocorrência de recombinação somática entre estes grupos (LESLIE, 1993). Saupe (2000) comenta que a classificação de diferentes isolados em grupos de compatibilidade micelial pode ser uma boa ferramenta para análises de populações de fungos de reprodução assexual, já que, em populações naturais, o número de GCMs é considerável.

De acordo com Leslie e Zeller (1996), o fenótipo de compatibilidade micelial apresenta controle poligênico, representando uma alternativa na identificação de conjuntos de isolados que compartilhem os mesmos alelos. Portanto, a classificação de isolados em GCM representa uma importante ferramenta para análise de populações de fungos.

Quando a hifa de um isolado difere em um ou mais locos que controlam a fusão, a compartimentalização e a lise da célula, ocorre a formação de uma zona (linha/barreira) de reação com redução de crescimento entre os dois isolados. Portanto, ocorre uma perfeita zona de interação, característica entre os isolados que são incompatíveis micelialmente (KOHN; CARBONE; ANDERSON, 1990).

Com a análise de GCMs, Van der Waals, Korsten e Slippers (2004) verificaram ampla variabilidade genética entre 53 isolados de *A. solani*, quanto à compatibilidade micelial, observando a formação de seis grupos contendo vários isolados e 13 isolados não formaram grupos.

Em outros trabalhos tem sido utilizado o fenômeno natural da compatibilidade micelial como um método para verificar a diversidade genética em várias espécies de fungos (KERÉNYI et al., 1997; ELENA; PAPLOMATAS, 1998; CATEN; NEWTON, 2000; TSOR et al., 2001; NITZAN et al., 2002; GIONANNETTI et al., 2003; ROCA et al., 2004; OLIVEIRA, 2007).

Oliveira (2007) avaliou 60 isolados de *A. solani* quanto à compatibilidade micelial, observando que todos apresentaram capacidade de serem compatíveis micelialmente com os demais.

Nenhum relato foi encontrado em relação à compatibilidade micelial em *A. grandis*.

2.5 Variabilidade patogênica de *A. solani* e *A. grandis*

De acordo com McDonald e Linde (2002), a variabilidade patogênica é importante, do ponto de vista epidemiológico e evolutivo, pois tem implicações diretas no manejo da doença e possibilita o estabelecimento de populações com especificidade para hospedeiros, podendo ocorrer, em longo prazo, processos de especiação. A determinação da ocorrência ou não da especialização por hospedeiros contribui para melhorar o manejo da doença. Para que medidas acertadas possam ser tomadas, é necessário determinar se há diferenças patogênicas relevantes que corroborem a possível especialização do hospedeiro.

Bonde (1929) deu início aos estudos com espécie *A. solani* e, desde então, há o conhecimento de variabilidade quanto à agressividade de isolados provenientes de batateira. Henning e Alexander (1959) realizaram um estudo com 180 isolados de *A. solani* de tomateiro, tendo sido constatadas variações quanto à agressividade em espécies de *Solanum*, com diferentes níveis de resistência ao patógeno.

Rotem (1966) realizou um estudo da agressividade de isolados oriundos de batateira, tomateiro e berinjela e observou que, nos diferentes hospedeiros, a inoculação de cada isolado resultou em níveis variados de agressividade. Verificou também uma diferença na estabilidade dos isolados, quando estes eram armazenados. Foi constatado, ainda, que isolados que tiveram a agressividade reduzida eram instáveis em suas características culturais, enquanto isolados estáveis quanto à agressividade apresentaram-se também estáveis nessas características. Portanto, foi possível concluir que as mudanças nas características culturais estavam associadas a uma possível degeneração dos isolados quanto à agressividade.

Estudos têm verificado a ocorrência de especialização patogênica de populações de *A. solani* quanto a hospedeiros da família Solanaceae

(FANCELLI, 1991; WEIR et al., 1998). Fancelli (1991) realizou um experimento utilizando isolados oriundos de batateira e tomateiro. Este autor observou que sintomas típicos da pinta-preta em hastes de tomateiros foram causados apenas por isolados obtidos de tomateiro, e isolados obtidos de batateira, quando inoculados em tomateiro, induziram sintomas atípicos, como ausência de lesões nas hastes e necroses pardo-claras nas folhas, sem os círculos concêntricos, portanto, indicando a formação de grupos distintos de isolados de acordo com o hospedeiro. Diante dessas diferenças, foi sugerida a nomenclatura *A. solani* f. sp. *Lycopersici*, para os isolados do tomateiro e *A. solani* f. sp. *Solani*, para os isolados da batateira.

Rodrigues e Mizubuti (2009), após a descoberta das novas espécies causadoras da pinta-preta no Brasil, realizaram um estudo com isolados de batateira e tomateiro. Foi verificado que isolados das espécies que afetam o tomateiro podem infectar batateira e isolados de *A. grandis*, que afetam batateira, podem causar doença em tomateiro. Assim, apesar da associação da população do patógeno com os hospedeiros, a especificidade não é completa. Entretanto, o fato de não ocorrer especificidade completa não impede que haja certo grau de preferência por hospedeiro, possivelmente ocasionada por diferenças de agressividade dos isolados. Contudo, até o presente momento, são poucas as informações quanto à biologia de espécies de *Alternaria* que afetam batateira e tomateiro, principalmente com relação à agressividade.

Zadoks e Schein (1979) descrevem agressividade como a quantidade de doença produzida pela interação patógeno-hospedeiro suscetível. Essa agressividade é separada em elementos de características quantitativas do ciclo de vida do patógeno, que são utilizadas para mensurar a sua variabilidade patogênica. Estas características são referidas como componentes de agressividade que correspondem aos componentes epidemiológicos, sendo os mais quantificados o período latente (PL), o período de incubação (PI), a área

abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), a taxa de expansão da lesão, a área da lesão, a severidade da doença e a frequência de infecção (FI).

Em síntese, apesar de a variabilidade quanto à agressividade ter implicações importantes no manejo da pinta-preta, há poucos trabalhos conduzidos com isolados brasileiros do gênero *Alternaria* em que os componentes epidemiológicos tenham sido adequadamente quantificados.

2.6 A resistência à pinta-preta

Até o momento inexistem trabalhos sobre o mecanismo de resistência à pinta-preta causada por *A. grandis*. Todos os relatos encontrados referem-se a experimentos que utilizaram isolados de *A. solani*.

A resistência à pinta-preta é um caráter tipicamente quantitativo, sendo caracterizada como resistência redutora da taxa de infecção ou horizontal (CHRIST; HAYNES, 2001), porém, estimativas de herdabilidade no sentido amplo sugerem que é controlada por um número não muito elevado de genes (PINTO; FARIA; LAMBERT, 2002).

Algumas observações indicam que a resistência à pinta-preta pode estar relacionada com a idade da cultivar, sendo as cultivares precoces mais suscetíveis que as tardias. Além disso, folhas mais velhas são mais suscetíveis e a suscetibilidade aumenta com o crescimento das plantas (ROTEM, 1994). Essas características, juntamente com a falta de conhecimento sobre o mecanismo de resistência e, ainda, a natureza tetrassômica da batata, dificultam a discriminação de genótipos em classes resistentes e suscetíveis (DITA et al., 2006).

Segundo Sillero e Rubiales (2002), a quantificação dos componentes da resistência permite a separação de genótipos em classes dentro da resistência e ainda pode sugerir possíveis mecanismos de resistência. De acordo com Agrios (2005), esses componentes da resistência são:

- a) período de incubação: definido como o tempo decorrido entre a inoculação e o aparecimento de sintomas em 100% das plantas;
- b) número de lesões: é o número de lesões contadas em determinados dias após a inoculação;
- c) severidade da doença: porcentagem da área foliar com tecido necrosado. Geralmente estimada utilizando uma escala diagramática conhecida, desenvolvida para a doença;
- d) taxa de expansão da lesão: estimada por meio da medição do diâmetro da lesão;
- e) período latente: são os dias decorridos da inoculação até a esporulação das lesões;
- f) produção de esporos por área de lesão: é a quantificação do número de esporos por lesão;
- g) área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD): é utilizada para sumarizar a curva de progresso. A área integra a intensidade da doença entre dois períodos de tempo;
- h) frequência de infecção (FI): é a probabilidade de um esporo depositado na superfície do hospedeiro produzir uma lesão na ausência de interações competitivas. Representa, portanto, o sucesso do patógeno.

A identificação de quais desses componentes melhor discriminam a resistência à pinta-preta e a determinação do efeito da idade do tecido sobre estes componentes podem melhorar a avaliação de genótipos de batata a esses patógenos. Adicionalmente, o conhecimento da influência dos componentes na resistência pode gerar dados úteis para a investigação dos mecanismos envolvidos na resistência.

No intuito de caracterizar a resistência à pinta-preta em cultivares de batata, Pelletier e Fry (1989) mensuraram o período de incubação, a taxa de expansão das lesões e a produção de esporos de *A. solani*, em plantas das cultivares Kennebec, Norchip e Rosa, em condições de campo. Os resultados desse estudo explicam o ranking da resistência dessas cultivares. ‘Norchip’, considerada suscetível, apresentou período de incubação curto, rápida taxa de expansão das lesões e esporulação elevada, mostrando maior eficiência da infecção. ‘Kennebec’, moderadamente resistente, teve período de incubação e taxa de expansão das lesões moderadas e a esporulação foi moderadamente alta. Na cultivar Rosa, o período latente foi moderado, a taxa de expansão das lesões foi baixa e a esporulação alta, confirmando sua posição como a mais resistente das cultivares avaliadas.

Dita et al. (2006) avaliaram a reação das cultivares Aracy (resistente), Delta (moderadamente resistente), Desirée (susceptível) e Bintje (susceptível), a partir da inoculação de um isolado de *A. solani*, em plantas de batata. Foram avaliados os componentes da resistência (período de incubação, número de lesões, severidade, taxa de expansão das lesões, período latente e a produção de esporos) em diferentes posições das plantas (folhas baixas, medianas e do ápice). Foram encontrados valores baixos para número de lesões e severidade nas folhas do ápice das plantas de todas as cultivares, sugerindo que tecidos jovens são menos suscetíveis à pinta-preta. Diferenças nos níveis de resistência entre as cultivares foram detectadas, considerando o número de lesões, a severidade e a taxa de expansão das lesões. Entretanto, nem o período latente e nem a produção de esporos foram associados com os níveis de resistência das cultivares ou com a posição das folhas. A análise das partes das plantas permitiu inferir que folhas da parte mediana das plantas são mais adequadas para a seleção da resistência à pinta-preta em batata.

Estudos histopatológicos em cultivares de batata (Aracy, Delta e Bintje) inoculadas com *A. solani* foram realizados com o objetivo de descrever o processo de infecção e identificar possíveis mecanismos estruturais relacionados com os níveis de resistência das cultivares, incluindo a relação com a idade das plantas. Para isso, foram coletados dados qualitativos e quantitativos sobre a germinação dos conídios, a formação de apressórios, o número de penetrações e os sítios de penetração exibidos pela resposta de hipersensibilidade (HR) em vários períodos de tempo após a inoculação. Não houve associação entre os eventos e os níveis de resistência, exceto para o número de sítios de penetração, mostrando que a HR foi alta para ‘Aracy’, intermediária para ‘Delta’ e baixa para ‘Bintje’. Independentemente do nível de resistência da cultivar, o número de sítios de penetração com HR foi alto nas folhas da parte apical das plantas, sugerindo que a HR pode ser um dos mecanismos associados com a idade e com a resistência genética em batata para a pinta-preta (DITA et al., 2006).

Estudos que elucidem os mecanismos de resistência à pinta-preta são muito importantes para os programas de melhoramento. A obtenção de materiais adaptados e com resistência a essa doença é fundamental para a expansão da bataticultura brasileira. Entretanto, são necessárias mais informações sobre os agentes etiológicos da doença e, ainda, o desenvolvimento de uma metodologia para avaliação em larga escala, que seja mais rápida e eficiente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, no Departamento de Agricultura e no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, no Departamento de Biologia, ambos na Universidade Federal de Lavras (UFLA).

3.1 Avaliação *in vitro* da reação de genótipos de batata à severidade da pinta-preta

3.1.1 Obtenção e manutenção dos isolados de *Alternaria* spp.

Foram utilizados três isolados de *A. grandis*, cedidos pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) e dois isolados de *A. solani*, da Micoteca do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças, da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (Tabela 1).

Tabela 1 Relação dos isolados de *Alternaria* spp. utilizados neste estudo

Espécie	Hospedeiro de origem	Isolado	Local de coleta
<i>A. grandis</i>	Batateira	Ag 169	Bueno Brandão - MG
<i>A. grandis</i>	Batateira	Ag 260	Cristalina – GO
<i>A. grandis</i>	Batateira	Ag 220	Camanducaia – MG
<i>A. solani</i>	Batateira	As 22	Paraguaçu – MG
<i>A. solani</i>	Batateira	As 14	Carrancas – MG

As colônias dos isolados foram crescidas em meio batata dextrose Agar (BDA) e mantidas em BOD (incubadora de crescimento), com controle de temperatura de 25±2°C.

3.1.2 Obtenção *in vitro* das plântulas de batata

Foram obtidas, para avaliação, plântulas de 19 clones de batata do Programa de Melhoramento Genético da UFLA, sendo sete denominados PRM, seis DGN, quatro CBM e dois CTB. Foram utilizadas as cultivares Aracy e Bintje como padrões de resistência e suscetibilidade, respectivamente. Foi avaliada também a cultivar Cupido, totalizando 22 genótipos, discriminados na Tabela 2.

Tabela 2 Relação de genótipos de batata utilizados neste estudo

Nº	Genótipos	Tipo	Nº	Genótipos	Tipo
1	PRM 51	Clone	12	CBM 04-48	Clone
2	CBM 24-06	Clone	13	CTB 38-38	Clone
3	DGN 12-03	Clone	14	CUPIDO	Cultivar
4	DGN 24-02	Clone	15	PRM 110	Clone
5	PRM 177	Clone	16	ARACY	Cultivar
6	PRM 516	Clone	17	BINTJE	Cultivar
7	PRM 530	Clone	18	PRM 475	Clone
8	DGN 39-08	Clone	19	PRM 267	Clone
9	DGN 19-03	Clone	20	CBM 09-10	Clone
10	DGN 27-03	Clone	21	CBM 19-11	Clone
11	DGN 21-10	Clone	22	CTB 40-12	Clone

Foram utilizadas brotações de tubérculos como materiais propagativos na obtenção *in vitro* de plântulas de batata. Os brotos de aproximadamente 1,5 a 2,0 cm, após a excisão foram submetidos a um processo de assepsia mediante a imersão em uma solução de 50 mL de hipoclorito de sódio (produto comercial 2,5% de cloro ativo) e 50 mL de água destilada. Posteriormente, foram mantidos sob agitação, por 15 minutos, para completar o processo de assepsia. Após esse

tratamento, em câmara de fluxo laminar devidamente esterilizada, os brotos foram enxaguados, por três vezes, com água destilada estéril. Com o auxílio de um bisturi esterilizado, foi deixado um pequeno ferimento na base dos brotos e estes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com pH ajustado a $5,7 \pm 0,2$. O material foi mantido em sala de crescimento em condições controladas, para atingir o seu desenvolvimento. Foram utilizadas cinco plântulas para cada genótipo, com aproximadamente duas semanas de idade.

3.1.3 Inoculação *in vitro* dos patógenos *A.solani* e *A. grandis*

As plântulas obtidas de cada genótipo de batata foram inoculadas com um disco micelial de 5 mm de diâmetro dos cinco isolados sobre o lado adaxial de uma das folhas. As plântulas foram incubadas a 25 ± 2 °C, no escuro.

3.1.4 Avaliação *in vitro* da reação de genótipos de batata à severidade da pinta-preta

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado (DIC), no esquema fatorial 22 X 5, sendo 22 genótipos de batata e 5 isolados, sendo três de *A.grandis* e dois de *A.solani*, com cinco repetições. A parcela foi constituída por uma plântula.

Após cinco dias de incubação, as plântulas foram avaliadas quanto à reação à pinta-preta, de acordo com a escala de notas proposta por Van der Waals, Korsten e Slippers (2004), sendo:

0 = sem sintomas,

1 = ligeira necrose na folha,

2 = folha inteira necrosada,

3 = necrose na folha, pecíolo e outras partes da planta.

De acordo com a escala, as plântulas com notas inferiores a 2 são consideradas resistentes e, com notas maiores ou iguais a 2, suscetíveis.

Foi somada uma constante (1,0) a cada nota de severidade da pinta-preta obtida e os dados foram transformados por meio da raiz quadrada para atender às pressuposições da análise de variância. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância no programa estatístico MSTAT-C (1991) e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974), a $P \leq 0,05$.

3.2 Comparação entre as espécies *A. solani* e *A. grandis*

3.2.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)

Discos de 5 mm foram retirados de colônias em crescimento ativo dos cinco isolados e transferidos para placas de Petri contendo meio BDA, com fotoperíodo de doze horas, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, em BOD (câmara de crescimento). Os diâmetros das colônias foram mensurados, a cada 72 horas, por um período de 15 dias, a partir do momento de inoculação (NECHET, 1999).

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições por isolado, sendo cada repetição representada por uma placa.

As mensurações obtidas foram utilizadas para a obtenção do IVCM. Foi utilizada a fórmula adaptada de Oliveira (1991):

$$IVCM = \sum[(D - D_a) / N]$$

sendo

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial

D = diâmetro médio da colônia

D_a = diâmetro médio da colônia da avaliação anterior

N = número de dias após a inoculação

3.2.2 Grupos de compatibilidade micelial (GCM)

Para a avaliação dos grupos de compatibilidade micelial (GCM), foi utilizada a metodologia de Van der Waals, Korsten e Slippers (2004), com modificações. Discos miceliais de 5 mm de diâmetro foram transferidos para placas com BDA, em um arranjo de dois discos distanciados a 3 cm por placa. Estas foram mantidas em câmara de crescimento (BOD), a 25±2 °C, no escuro, por quinze dias.

Os pares de isolados confrontados foram considerados como incompatíveis quando foi observada uma linha de contato ou zona de reação. Com relação aos pares de isolados em que não foi possível verificar essa região de contato, indicando que os micélios se misturaram uniformemente, estes isolados foram considerados compatíveis vegetativamente. Foram realizadas três repetições para cada par de combinações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação *in vitro* da reação de genótipos de batata à severidade da pinta-preta

As notas de severidade da pinta-preta foram obtidas por meio da avaliação da reação dos genótipos de batata, quando inoculados com discos de micélio dos isolados de *Alternaria* spp. Os sintomas apresentados pelos genótipos avaliados foram coincidentes com a escala de notas proposta por Van der Waals, Korsten e Slippers (2004) e alguns exemplos estão apresentados na Figura 1.

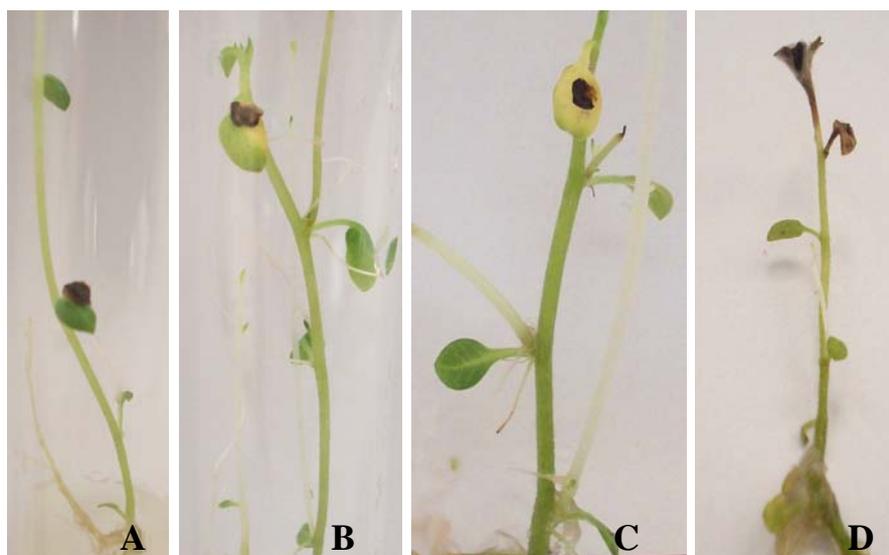


Figura 1 Ausência ou presença de sintomas apresentados por alguns genótipos de batata, quando inoculados com isolados de *Alternaria* spp. A: Aracy (Nota 0). B: Clone CBM 19-11 (Nota 1). C: Clone DGN 19-03 (Nota 2). D: Bintje (Nota 3)

De acordo com a análise de variância das notas de severidade da pinta-preta dos 22 genótipos de batata aos cinco isolados de *Alternaria* spp. avaliados, as fontes de variação genótipos e a interação genótipos x isolados foram significativas, indicando que a reação dos genótipos aos diferentes isolados não foi coincidente. Já a fonte de variação, isolados, foi não significativa, indicando que não houve diferença entre eles quanto à agressividade. O coeficiente de variação foi de 12,67%, indicando uma boa precisão experimental.

O teste de médias de Scott e Knott (1974), a $P \leq 0,05$, da reação dos genótipos de batata quanto à severidade da pinta-preta, foi realizado para cada isolado (Tabela 3). Para os isolados Ag169, Ag260, As22 e As14, os genótipos foram agrupados em dois grupos distintos, de acordo com a escala de notas proposta por Van der Waals, Korsten e Slippers (2004). No grupo A, estão os genótipos que apresentaram notas com valores abaixo de 2 e, portanto, foram considerados resistentes e no outro grupo B, os genótipos que apresentaram notas acima ou igual a 2, sendo classificados como suscetíveis.

Para o isolado Ag220, os genótipos foram agrupados em três grupos distintos, no entanto, a classificação dos genótipos como resistente ou suscetível foi semelhante à obtida para os demais isolados avaliados, considerando a mesma escala. Pode-se inferir que o isolado Ag220 permitiu uma melhor discriminação dos genótipos de batata quanto à reação à pinta-preta, porém, com a utilização da escala de notas não houve mudança quanto à classificação.

Os resultados obtidos evidenciam que os mecanismos de resistência de genótipos de batata à pinta-preta para ambas as espécies, provavelmente, são os mesmos.

Tabela 3 Notas médias de severidade da pinta-preta dos genótipos de batata aos cinco isolados de *Alternaria* spp. avaliados pelo teste de Scott e Knott (1974), a $P \leq 0,05$

GENÓTIPOS	Ag 169	Ag 220	Ag 260	As 22	As14
PRM 51	1,40A *	1,80B	1,48A	1,20A	1,40A
CBM 24-06	1,56A	1,00A	1,48A	1,44A	1,28A
DGN 12-03	1,60A	1,20A	1,48A	1,40A	1,20A
DGN 24-02	1,20A	1,00A	1,40A	1,24A	1,20A
PRM 177	1,48A	1,48B	1,40A	1,24A	1,44A
PRM 516	1,20A	1,60B	1,40A	1,20A	1,40A
PRM 530	1,56A	1,28A	1,48A	1,48A	1,56A
DGN 39-08	1,24A	1,28A	1,48A	1,24A	1,20A
DGN 19-03	2,68B	3,16C	2,92B	3,40B	2,96B
DGN 27-03	1,60A	1,60B	1,56A	1,40A	1,20A
DGN 21-10	1,72A	1,48B	1,48A	1,48A	1,72A
CBM 04-48	1,28A	1,48B	1,48A	1,48A	1,28A
CTB 38-38	1,40A	1,48B	1,80A	1,60A	1,60A
CUPIDO	3,40B	3,20C	3,40B	3,40B	3,20B
PRM 110	3,00B	3,00C	2,80B	2,80B	2,92B
ARACY	1,20A	1,24A	1,48A	1,00A	1,48A
BINTJE	3,16B	3,20C	3,60B	3,16B	3,40B
PRM 475	4,00B	3,40C	2,92B	3,20B	2,92B
PRM 267	1,00A	1,00A	1,40A	2,00B	2,40B
CBM 09-10	3,40B	3,00C	2,92B	3,00B	3,00B
CBM 19-11	1,40A	1,72B	1,80A	1,96A	1,96A
CTB 40-12	3,16B	3,00C	2,60B	3,00B	2,40B

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Scott & Knott, a $P \leq 0,05$

As cultivares Aracy e Bintje foram agrupadas em grupos distintos, confirmando suas classificações como resistente e suscetível, respectivamente. A cultivar Aracy já vem sendo utilizada como padrão de resistência, conforme comentado por Simon et al. (2009). Estes autores obtiveram bons resultados por meio da inoculação utilizando ramas desidratadas infectadas, identificando clones de batata em campo com bons níveis de resistência à pinta-preta, apresentando médias superiores à da cultivar Aracy.

De maneira geral, 70% dos genótipos avaliados foram classificados como resistentes frente à inoculação com os diferentes isolados de *Alternaria* spp. Dos sete clones PRM, quatro (PRM 51, PRM 177, PRM 516 e PRM 530)

foram considerados resistentes, dois (PRM 110 e PRM 475) suscetíveis e a única exceção foi o clone PRM 267, que apresentou comportamento diferenciado quando inoculado com as diferentes espécies. De acordo com os resultados, esse clone, quando inoculado com os isolados de *A. grandis*, foi classificado como resistente e, quando inoculado com os isolados de *A. solani*, foi considerado como suscetível.

As notas obtidas para o clone PRM 475 chamam a atenção, já que foram, para a maioria dos isolados, superiores às notas atribuídas à cultivar Bintje, considerada como padrão de suscetibilidade. Neste caso, os sintomas foram intensos em toda a plântula, como pode ser observado na Figura 2.

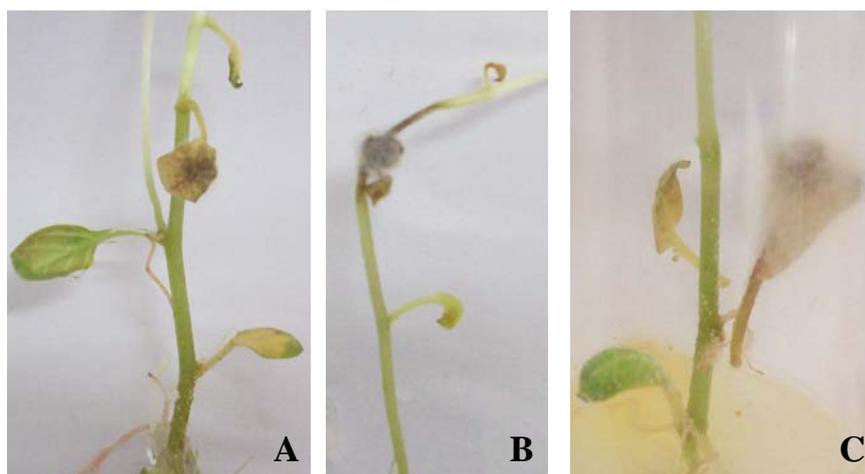


Figura 2 Sintomas apresentados por plântulas de batata do clone PRM 475, inoculadas com isolados de *Alternaria* spp. A: Sintomas em todas as folhas da plântula. B: Necrose se alastrando pelo pecíolo. C: Desfolha

Em estudos de campo realizados por Pinto, Faria e Lambert (2002) foram avaliados diversos clones quanto à resistência à pinta-preta e seus resultados também foram coincidentes com a avaliação *in vitro* realizada no presente estudo. Os clones PRM 51, PRM 177, PRM 516 e PRM 530, que se

mostraram resistentes em campo, também foram classificados, *in vitro*, como resistentes, pela escala de notas de Van der Waals, Korsten e Slippers (2004).

Cinco dos clones DGN avaliados foram considerados resistentes para todos os isolados inoculados. Porém, destaque deve ser dado ao clone DGN 24-02, que obteve média geral inferior à da Aracy, sugerindo um bom nível de resistência à pinta-preta. O comportamento desse clone foi coincidente com o observado por Neder et. al (2010), em experimentos conduzidos em campo, utilizando a cultivar Chiquita como padrão de resistência. Os clones DGN 39-08, DGN 27-03 e DGN21-10 apresentaram o mesmo comportamento *in vitro*, quando comparados com os dados observados em campo pelos mesmos autores, sendo considerados como resistentes.

Os clones CTB e CBM ainda não haviam sido avaliados quanto à severidade da pinta-preta. Destes clones, apenas o CBM 09-10 e o CTB 40-12 foram considerados suscetíveis, enquanto três CBM e o CTB 38-38 foram resistentes. Vale ressaltar que os clones CBM são considerados promissores para o programa de melhoramento da UFLA, já que apresentam características agrônomicas desejáveis, como alto teor de matéria seca de tubérculos, alta porcentagem de tubérculos graúdos e, principalmente, tolerância ao calor, característica essa muito importante para o plantio da cultura da batata no Brasil. Quanto à resistência a doenças, alguns desses clones têm maior nível de resistência à podridão-mole dos tubérculos, doença causada pela bactéria *Pectobacterium carotovorum* (antiga *Erwinia*) (SILVA; PINTO; FIGUEIRA, 2000) e o clone CBM 24-06 possui resistência extrema ao PVY (RIBEIRO et al., 2009).

Os resultados obtidos neste estudo corroboram aqueles obtidos, em casa de vegetação, por Rodrigues e Mizubuti (2009), em que plantas de batata foram inoculadas com *A. grandis* e *A. solani* e apresentaram sintomas e intensidade de doença semelhantes. Os mesmos autores comentam que o conhecimento das

mudanças na população de *Alternaria* spp. tem grande importância nos aspectos relacionados à etiologia, ao manejo de epidemias e às diretrizes dos programas de melhoramento, visando à resistência à pinta-preta.

De forma geral, a avaliação para resistência à pinta-preta é realizada em campo e em casa de vegetação, onde as plantas são submetidas tanto à infecção natural quanto à inoculação artificial por suspensão de conídios (NACHMIAS et. al., 1988). Entretanto, esta última é limitada pela dificuldade de se produzir esporos suficientes de *Alternaria* spp. para inoculação de genótipos em larga escala. Dessa forma, torna-se necessária a utilização de uma metodologia de inoculação artificial eficaz, que permita a avaliação de um grande número de genótipos, contribuindo, assim, com o melhoramento, na obtenção de cultivares resistentes.

Como já mencionado, os resultados obtidos neste trabalho foram coincidentes com os relatos da literatura para os isolados de *A. solani*, já que inexistem informações sobre a reação a isolados de *A. grandis*. Dessa forma, a avaliação de genótipos de batata *in vitro* mostrou-se viável e de fácil execução como um método de seleção precoce visando à resistência à pinta-preta. No entanto, estudos complementares devem ser realizados no intuito de determinar os componentes epidemiológicos, para maior acurácia das informações obtidas.

4.2 Comparação entre as espécies *A. solani* e *A. grandis*

4.2.1 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)

A análise de variância dos dados médios do IVCM dos cinco isolados de *Alternaria* spp. avaliados permitiu inferir que houve diferença significativa entre eles. O coeficiente de variação foi de 2,81%, indicando uma boa precisão experimental.

Foi realizada a comparação entre as médias do IVCN, pelo teste de Scott e Knott (1974), a $P \leq 0,05$, que separou os isolados em dois grupos distintos, quanto à velocidade de crescimento micelial (Tabela 4). Os grupos foram divididos de acordo com a espécie: o grupo A, que apresentou maior IVCN, representado por isolados de *A. grandis* e o grupo B, que apresentou menor IVCN, formado por isolados de *A. solani*. O IVCN variou de 1,02 cm/dia (As 14) a 1,97 cm/dia (Ag 169). Não há nenhum relato considerando crescimento micelial e IVCN em isolados de *A. grandis*. Todos os dados encontrados referem-se a experimentos em que foram utilizados isolados de *A. solani*.

Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com relatos da literatura quanto à amplitude dos dados de velocidade de crescimento micelial para isolados de *A. solani*. (MICHEREFF et al., 2003; KUMAR, 1998). Nesses estudos, o intervalo observado para o IVCN foi de 0,7 cm/dia a 1,80 cm/dia. Quanto aos dados obtidos para os isolados de *A. grandis*, é possível inferir que apresentaram crescimento mais rápido quando comparados aos isolados de *A. solani*, o que pode ser confirmado pelos valores superiores de IVCN, revelando a existência de variabilidade entre as duas espécies para esta característica.

Tabela 4 Notas médias do IVCN (cm/dia) dos cinco isolados de *Alternaria* spp., pelo teste de Scott & Knott a $P \leq 0,05$

Isodados	IVCN
Ag 169	1,97 A *
Ag 260	1,95 A
Ag 220	1,94 A
As 22	1,06 B
AS 14	1,02 B

* Médias com a mesma letra não são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Scott e Knott (1974), a $P \leq 0,05$

De acordo com as equações de regressão (Gráfico 1) obtidas e os respectivos valores de R^2 , observa-se que os dados de crescimento micelial se ajustaram ao modelo linear. Chamam a atenção os valores de b que foram de magnitudes semelhantes entre os isolados avaliados, principalmente os da mesma espécie. Já os valores de a foram de magnitudes superiores para os isolados de *A. grandis*, quando comparados com os isolados de *A. solani*, indicando que estes isolados apresentaram crescimento inicial mais rápido. Portanto, os isolados de *A. Grandis* apresentaram colônias com diâmetros maiores, quando comparados com os isolados de *A. solani*.

Vale ressaltar que os isolados de *A. grandis* e *A. solani* apresentaram comportamento diferenciado em relação à velocidade de crescimento micelial, o que não ocorreu em relação à agressividade dos mesmos.

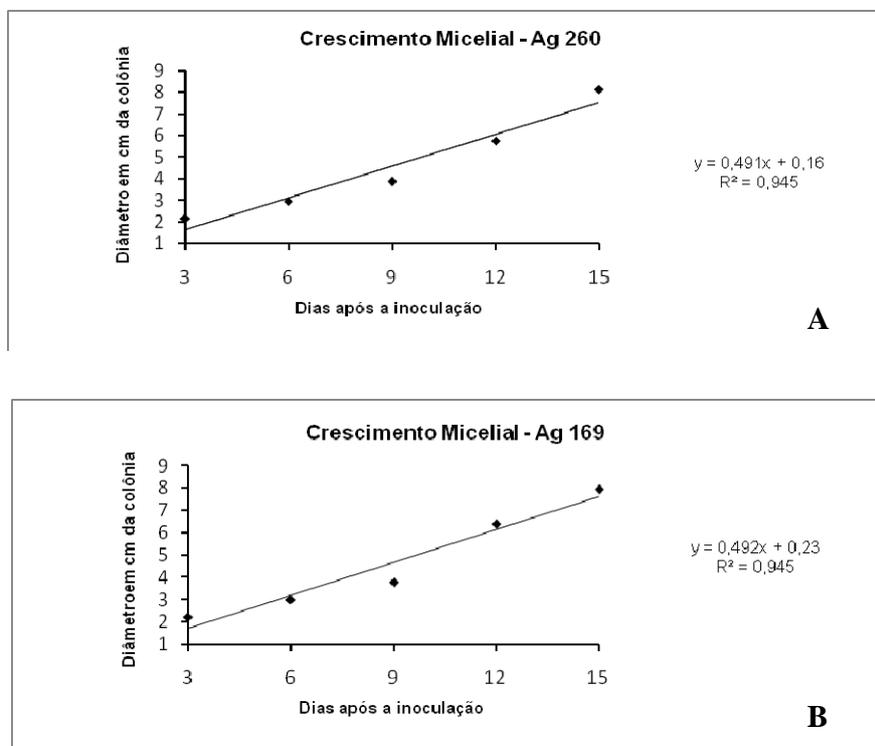
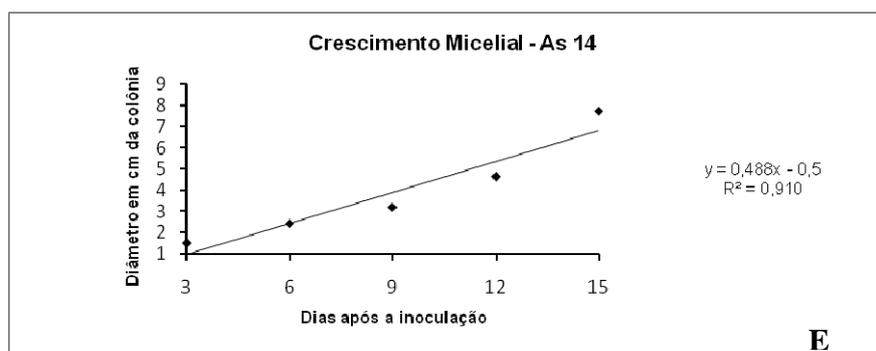
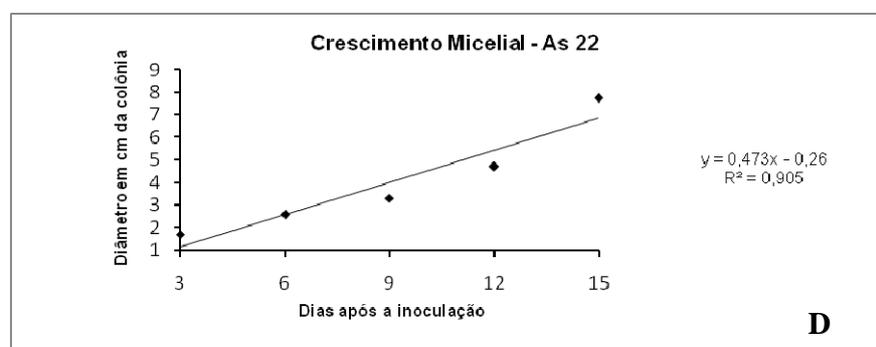
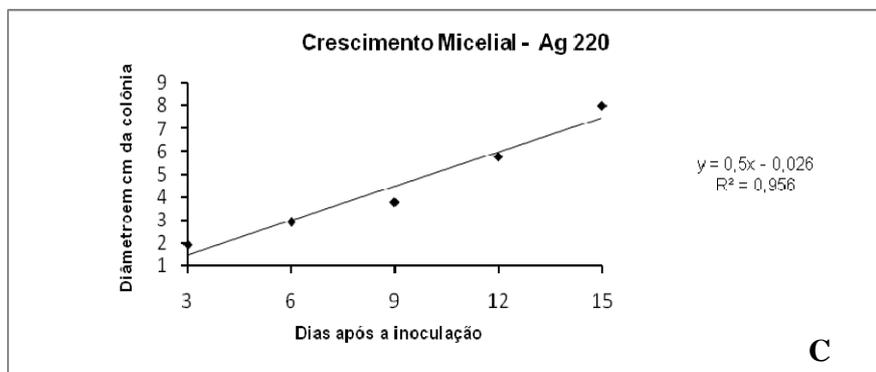


Gráfico 1 Regressão do crescimento micelial dos isolados de *Alternaria* spp. A: crescimento micelial do isolado Ag 260, B: crescimento micelial do isolado Ag 169, C: crescimento micelial do isolado Ag 220, D: crescimento micelial do isolado As 22 e E: crescimento micelial do isolado As 14

(...Continua...)



4.2.2 Grupos de compatibilidade micelial (GCM's)

Foram avaliadas 15 combinações de pareamentos dos cinco isolados de *Alternaria* spp. Deste total, aproximadamente 87% apresentaram compatibilidade micelial. O restante dos pareamentos apresentou a zona de reação, sendo, portanto, incompatíveis (Tabela 5).

Tabela 5 Reação de compatibilidade e incompatibilidade micelial entre os diferentes isolados avaliados

Isolados	Ag 169	Ag 260	Ag 220	As 22	As 14
Ag 169	+	+	+	+	+
Ag 260	+	+	+	+	+
Ag 220	+	+	-	+	+
As 22	-	+	+	+	+
As 14	+	+	+	+	+

+: reação de compatibilidade

-: reação de incompatibilidade

Dentre os pareamentos avaliados, o Ag220 x Ag220 apresentou autoincompatibilidade e o Ag169 x As22 foi incompatível (Figura 3). De acordo com Saupe (2000), os resultados obtidos no presente estudo são coerentes, já que interações incompatíveis podem ocorrer frequentemente entre os isolados de uma mesma população, bem como de populações distintas.

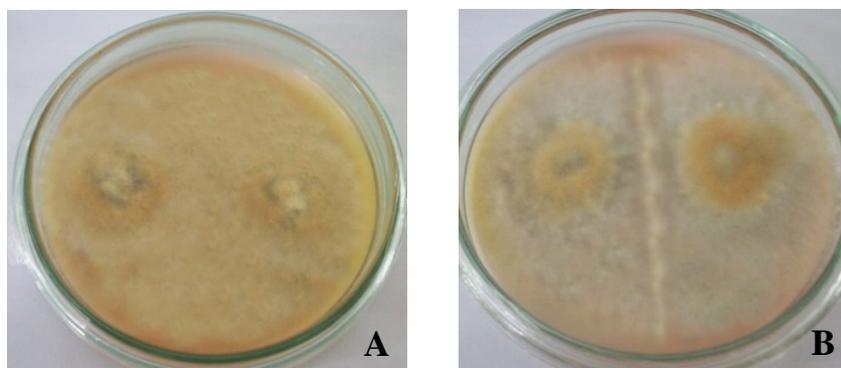


Figura 3 Exemplos de pareamento dos isolados de *Alternaria* spp. A: Compatibilidade entre isolados de *A. grandis* B: Autoincompatibilidade do isolado Ag 220

Van der Walls, Korsten e Slippers (2004), ao analisarem os grupos de compatibilidade micelial de 53 isolados de *A. solani*, observaram a formação de 6 grupos contendo vários isolados e 13 isolados não formaram grupos.

Oliveira (2007) avaliou 60 isolados de *A. solani* quanto à compatibilidade micelial, observando que todos apresentaram capacidade de serem compatíveis micelialmente com os demais, sendo formados 36 grupos quanto à característica avaliada.

De acordo com Glass, Jacobse e Shiu (2000), as reações de incompatibilidade podem estar relacionadas a um sistema de autodefesa, responsável por limitar a passagem de elementos infecciosos e/ou prevenindo a exploração por núcleos mal adaptados. Já a compatibilidade micelial é um pré-requisito para a ocorrência do ciclo parassexual, que é um mecanismo de recombinação genética em fungos que não se reproduzem sexuadamente, como os do gênero *Alternaria* (LOGUERCIO-LEITE, 2004), possibilitando a formação do heterocário, o que amplia a variabilidade genética da população.

A ocorrência de compatibilidade micelial entre isolados de *A. grandis* e *A. solani* é uma evidência de que há a possibilidade de ocorrer o ciclo

parassexual entre essas espécies. No entanto, como já mencionado, a compatibilidade micelial é apenas o primeiro passo para que ocorra a formação do heterocário. Portanto, trabalhos de avaliação de grupos de compatibilidade vegetativa entre as duas espécies deverão ser realizados, visando elucidar a possível ocorrência de recombinação por meio do ciclo parassexual.

5 CONCLUSÕES

- a) A metodologia de avaliação precoce *in vitro* da reação dos genótipos de batata à pinta-preta foi eficiente tanto para isolados de *A. grandis* quanto para isolados de *A. solani*.
- b) Os isolados de *A. grandis* e de *A. solani* apresentaram comportamento semelhante quanto à agressividade.
- c) Os isolados de *A. grandis* apresentaram IVCMS superiores e, portanto, apresentaram crescimento mais rápido, quando comparados aos isolados de *A. solani*.
- d) A ocorrência de compatibilidade micelial entre isolados de *A. solani* e *A. grandis* indica a possível ocorrência do ciclo parassexual.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier, 2005.
- AZEVEDO, J. L. Genética de fungos. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Org.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p. 379-447.
- BONDE, R. Physiological strains of *Alternaria solani*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 19, p.533-548, May 1929.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990.
- CATEN, C. E.; NEWTON, A. C. Variation in cultural characteristics, pathogenicity, vegetative compatibility and electrophoretic karyotype within field populations of *Stagonospora nodorum*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, n. 2, p. 219-226, Apr. 2000.
- CHARLTON, K. M. The sporulation of *Alternaria solani* in culture. **Transaction of the British Mycological Society**, Amsterdam, v. 36, n. 4, p. 349-355, Dec. 1953.
- CHRIST, B. J.; HAYNES, K. G. Inheritance of resistance to early blight disease in a diploid potato population. **Plant Breeding**, Berlin, v. 120, n. 2, p. 169-172, 2001.
- COUTO, M. E. O.; TAVARES, F. W. Levantamento de problemas fitossanitários no Estado do Rio Grande do Sul realizado pela clínica fitossanitária. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 181, mar./abr. 2002.

DITA, M. A. et al. Histopathological study of the *Alternaria solani* Infection Process in Potato Cultivars with Different Levels of Early Blight Resistance. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.155, n. 4-8, p. 462-469, Aug. 2006.

DOUGLAS, D. R.; PAVEK, J. J. An efficient method of inducing sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 61, p. 239, Mar. 1971.

ELENA, K.; PAPLOMATAS, E. J. Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahlia* isolates from different hosts in Greece. **Plant Pathology**, Oxford, v. 47, n. 5, p. 635-640, Oct. 1998.

ELLERS, K. L.; BAXTERS, L. W. Induced conidial formation in *Alternaria zinniae* on media amended with Morestan. **Proceedings of the American Phytopathological Society**, Saint Paul, v. 1, p. 159, 1974.

ELLIS, J. B.; MATIN, G. B. *Macrosporium solani* E. and M. **American Naturalist**, Chicago, v. 10, p. 103, 1882.

FANCELLI, M. I. **Comparação patogênica, fisiológica, serológica e eletroforética entre isolados de *Alternaria solani* do tomate e da batata e variabilidade patogênica de *A. solani* F. sp *lycopersici* N. F.** 1991. 80 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Potato world**. New York: FAOSTAT, 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 16 dez. 2011.

GIOVANNETTI, M. et al. Genetic diversity of isolates of *Glomus mosseae* from different geographic areas detected by vegetative compatibility testing and biochemical and molecular analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 1, p. 616–624, Jan. 2003.

GLASS, N. L. et al. Hyphal homing, fusion and mycelial interconnectedness. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 12, p. 135-141, Dec. 2004.

GLASS, N. L.; JACOBSE, D.; SHIU, P. K. The genetics of hyphal fusion and vegetative incompatibility in filamentous ascomycetes. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 34, p. 165-186, Dec. 2000.

HENNING, R. G.; ALEXANDRE, L. J. Evidence of existence of physiologic races of *Alternaria solani*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 43, p. 298-380, 1959.

HOLM, A. L. et al. Temporal sensitivity of *Alternaria solani* to foliar fungicides. **America Journal Potato Research**, Orono, v. 80, n. 1, p. 33-40, Jan./Feb. 2003.

JONES, J. B. et al. **Compendium of tomato disease**. Saintt Paul: APS, 1993.

JULIATTI, F. C. Manejo integrado de fungos fitopatogênicos. In: SILVA, L. H. C. P. da; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. de A. (Ed.). **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. p. 159-200.

KERÉNYI, Z. et al. Variability amongst strains of *Fusarium poae* assessed by vegetative compatibility and RAPD polymorphism. **Plant Pathology**, Oxford, v. 46, n. 6, p. 882-889, Dec. 1997.

KOHN, L. M.; CARBONE, I.; ANDERSON, J. B. Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Experimental Mycology**, Orlando, v. 14, n. 3, p. 255-267, Sept. 1990.

KUCZYNSKA, J. Early blight of potato in some regions of Eastern Europe. In: CHELKOWSKI, J.; VISCONTI, A. **Alternaria: biology, plant disease and metabolites**. Amsterdam: Elsevier Science, 1992. p. 267-268.

KUMAR, S. Effect of nitrogen on development of *Alternaria* blight caused by *Alternaria solani* of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in rainy and winter seasons. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 68 n. 2, p. 110-113, 1998.

KWASNA, H. Ecology and nomenclature of *Alternaria*. In: CHELKOWSKI, J.; VISCONTI, A. **Alternaria: biology, plant disease and metabolites**. Amsterdam: Elsevier Science, 1992. p. 267-288.

LESLIE, J. F. Fungal vegetative compatibility. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 31-0, p. 127-150, Sept. 1993.

LESLIE, J. F.; ZELLER, K. A. Heterokaryon incompatibility in fungi – more than just another way to die. **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 75, n. 3, p. 415-424, Dec. 1996.

LOGUERCIO-LEITE, C. et al. Taxonomia dos fungos. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução a biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p. 47-88.

MALOY, O. C. **Plant disease control: principles and practice**. New York: John Wiley, 1993.

MCCALLAN, S. E. A.; CHAN, S. Y. Inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. **Boyce Thompson Institute**, Yonkers, v. 49, n. 2-3, p. 323-335, 1944.

MCDONALD, B. A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, Wageningen, v. 124, n. 2, p. 163-180, 2002.

MICHEREFF, S. J. et al. Variabilidade de isolados de *Alternaria brassicola* no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 656-663, Nov./Dez. 2003.

MIGUEL, T. V.; SOUZA, E. A.; PINTO, C. A. B. P. Viabilidade do teste de patogenicidade *in vitro* para a seleção de clones de batata resistentes à pinta preta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. **Anais...** Guarapari: [s.n.], 2009.

MSTAT-C. A software program for the design, management and analysis of agronomic research experiments. [S.1]: Michigan State University, 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NACHMIAS, A. et al. The effects of *Alternaria solani* and *Verticillium dahliae* on potatoes growing in Israel. **Potato Research**, Wageningen, v. 31, n. 3, p. 443-450, 1988.

NEDER, D. G. et al. Seleção de clones de batata com resistência múltipla à pinta preta e aos vírus X e Y. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1702-1708, ago. 2010.

NITZAN, N. et al. Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of black dot on potato. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 8, p. 827-832, Aug. 2002.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.).** 1991. 111f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, M. da S. **Diversidade entre isolados de *Alternaria solani*: avaliação morfológica, fisiológica e molecular.** 2007. 99 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PELLETIER, J. R.; FRY, W. E. Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: incubation period, lesion expansion rate, and spore production. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, p. 511–517, May 1989.

PINTO, C. A. B. P.; FARIA, C. A.; LAMBERT, E. S. Potato clones resistance to early and late blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.2, n.2, p.189-196, June 2002.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. Tamanho e número de lesões como indicadores de resistência de batata (*Solanum tuberosum* L.) a *Alternaria solani* (Ell. E Mart.) Sorauer. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 2, p. 277-280, jun. 1981.

RIBEIRO, S. R. R. P. et al. Potato clones with multiple copies of the Ry(adg) allele conferring resistance to PVY. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 9, n. 2, p. 286-292, June 2009.

ROCA, M. M. G. et al. Compatibilidade sexual e vegetativa do complexo *Glomerella-Colletotrichum* associado a sementes de algodão. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 16-20, jan./fev. 2004.

RODRIGUES, T. T. M. S. et al. First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil. **New Disease Reports**, v. 22, p. 28-28, Nov. 2010.

RODRIGUES, T. T. M. S.; MIZUBUTI, E. S. G. Pinta preta: surge uma nova espécie. **Revista Batata Show**, Itapetininga, v. 24, p. 14-16, 2009.

ROTEM, J. **The genus *Alternaria*: biology, epidemiology and pathogenicity**. Saint Paul: APS, 1994.

ROTEM, J. Variability in *Alternaria porri* f.sp. *solani*. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 15, p. 48-57, 1966.

SAUPE, S. J. Molecular genetics of heterokaryon incompatibility in filamentous ascomycetes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Londrina, v. 64, n. 3, p. 489-502, Sept. 2000.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Bimetrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SHAHIN, E. A.; SHEPPARD, J. F. An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, p. 618-620, Dec. 1979.

SHTIENBERG, D. Integration of genotype and age-related resistances to reduce fungicide use in management of *Alternaria* diseases of cotton and potato. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 85, n. 9, p. 1037-1043, Sept. 1995.

SILLERO, J. C.; RUBIALES, D. Histological characterization of resistance to *Uromyces viciae-fabae* in faba bean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 8, p. 294-299, Mar. 2002.

SILVA, O. A.; PINTO, C. A. B. P.; FIGUEIRA, A. dos R. Identificação de clones de batata imunes aos vírus X (PVX) e Y (PVY), adaptados à região sul de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 4, p. 274-278, set. 2000.

SIMMONS, E.G. *Alternaria* themes and variations (244–286), species on solanaceae. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 125, p.1–115, 2000.

SIMON, G. A. et al. Seleção de clones de batata resistentes à pinta preta e tolerantes ao calor. **Revista Ceres**, v. 56, n. 1, p. 31-37, 2009.

STEVENSON, W. R. The potential impact of field resistance to early blight on fungicide inputs. **American Potato Journal**, Orono, v. 71, n. 5, p. 317-324, May 1994.

STRANDBERG, J. O. **Alternaria species that attack vegetable crops: biology and options for disease management.** Amsterdam: Elsevier, 1992.

STRANDBERG, J. O. Isolation, storage, and inoculum production methods for *Alternaria dauci*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, p. 1008-1012, 1987.

STRIDER, D. L. *Alternaria* blight of carnation in the greenhouse and its control. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 62, p. 24-28, 1978.

THIRTHAMALLAPPA, L.; LOHITHASWA, H. C. Genetics of resistance to early blight (*Alternaria solani* Sorauer) in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). **Euphytica**, Wageningen, v. 113, n. 3, p. 187-193, 2000.

TOFOLI, J. G. Pinta-preta: uma ameaça constante aos cultivos da batata e do tomate. **Cultivar**, Pelotas, 2004. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com>>. Acesso em: 10 set. 2011.

TSOR, L. et al. Aggressiveness of *Verticillium dahliae* isolates from different vegetative compatibility groups to potato and tomato. **Plant Pathology, Oxford**, v. 50, n. 4, p. 477-482, Aug. 2001.

VAN DER WAALS, J. E.; KORSTEN, L.; SLIPPERS, B. Genetic diversity among *Alternaria solani* isolates from potatoes in South Africa. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, p. 959-964, 2004.

VAN DER WAALS, J. et al. E. Influence of environmental factors on field concentrations of *Alternaria solani* conidia above a South African potato crop. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 31, n. 4, p. 353-364, 2003.

WEIR, T. L.; HUFF, D. R.; CHRIST, B. J. RAPD-PCR analysis of genetic variation among isolates of *Alternaria solani* and *Alternaria alternata* from potato and tomato. **Mycological**, Cambridge, v. 90, p. 813-821, 1998.

WILTSHIRE, S. P. The foundation species of *Alternaria* and *Macrosporium*. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 18, p. 135-60, 1933.

ZADOKS, J. C.; SCHEIN, R. D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University, 1979.