

TAKAO NAMEKATA

ENGENHEIRO AGRÔNOMO

Assistente da Seção de Fitopatologia Geral do
Instituto Biológico do Estado de São Paulo - S. P.

VARIABILIDADE DE *Stemphylium Solani* WEBER, AGENTE CAUSAL DA
MANCHA FOLIAR DO TOMATEIRO, NO ESTADO DE SÃO PAULO

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz" da Uni-
versidade de São Paulo, para obtenção
do Grau de "Magister Scientiae".

SÃO PAULO - JULHO - 1967

C O N T E Ú D O

	<u>Página</u>
I - INTRODUÇÃO	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
III - MATERIAIS E MÉTODOS	5
1. Coleta de materiais para o isolamento	5
2. Técnica de isolamento	7
3. Meios de cultura para crescimento e - esporulação	7
4. Comparações entre os isolamentos em - diferentes meios de cultura	8
5. Inoculações experimentais	9
5.1. Preparo de Mudas	10
5.2. Preparo de inóculo	10
5.3. Método de inoculação	11
5.4. Critério de avaliação dos resul- tados das inoculações	11
5.5. Reisolamentos	12
6. Conservação das culturas	12
7. Análises estatísticas	13
IV - RESULTADOS E DISCUSSÕES	14
1. Técnica de isolamento	14
2. Meios de cultura para crescimento e - esporulação	14
3. Comparação entre os isolamentos em di- ferentes meios de cultura	15
4. Inoculações experimentais	17
4.1. Teste de patogenicidade com 16 - isolamentos	17
4.2. Suscetibilidade das variedades - de tomateiro	21
4.3. Suscetibilidade de diferentes So- lanáceas	23
4.4. Reisolamentos	24
5. Conservação das culturas	24
6. Discussão final	24
V - CONCLUSÕES	26
VI - RESUMO	27
VII - SUMMARY	28
VIII - LITERATURA CITADA	30
IX - AGRADECIMENTOS	33

VARIABILIDADE DE STEMPHYLIUM SOLANI WEBER, AGENTE CAU-
SAL DE MANCHA FOLIAR DO TOMATEIRO, NO ESTADO DE SÃO
PAULO

I. INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro (Lycopersicum esculentum Mill.) constitui uma das mais importantes lavouras hortícolas em nosso país. Os dados estatísticos mostram que entre as plantas de importância econômica do Estado de São Paulo, o tomateiro ocupa o 8º lugar, com a renda bruta média dos 3 últimos anos (1964, 1965 e 1966), atingindo a importância de NCr \$45.310.000,00. Entretanto, os dados dos últimos 10 anos, indicam que está ocorrendo uma queda de produtividade. Esse fato pode ser atribuído, em parte, ao aumento da ocorrência de diversas doenças e pragas dessa cultura, não obstante, esforços contínuos estejam sendo realizados no sentido de sanar esses problemas. Por outro lado, é do conhecimento de todos os que trabalham com o assunto, desde agricultores a técnicos, que o tomateiro é uma planta muito delicada, sendo suscetível à grande número de agentes causadores de doenças.

No Brasil, devido às exigências do mercado, cultivava-se quase que exclusivamente a variedade Santa Cruz, bastante produtiva, mas suscetível à maioria dos agentes causadores de moléstias. Entre os agentes causadores de manchas foliares, o fungo Stemphylium solani Weber, está se tornando cada vez mais importante pelas suas manifestações epifitóticas, tanto no Estado de São Paulo como em Estados vizinhos, onde se cultiva o tomateiro.

Pela importância que apresenta, esta doença vem despertando o interesse dos fitopatologistas e melhoristas, po-

rém, a execução de trabalhos é dificultada devido aos conhecimentos esparsos sôbre a variabilidade do agente causal, dificuldades na manutenção de culturas puras e produção de conídios "in vitro". Dessa forma, no presente trabalho, procurou-se estudar as variações do fungo através de reações fisiológicas em meio de cultura, aspectos da esporulação das diversas culturas isoladas e a patogenicidade das mesmas, a fim de estabelecer uma classificação dos isolamentos em raças fisiológicas de Stemphylium solani.

Estudou-se, também, alguns aspectos da preservação de culturas, ponto básico para o prosseguimento de diversas pesquisas.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A primeira citação da ocorrência de mancha foliar -- "Gray leaf spot", coube a WEBER (1929) que assinalou a doença em Gainesville, na Flórida, Estados Unidos, em 1924. O estudo do fungo, agente causador da doença foi efetuado pelo mesmo autor (1930 e 1932) que o denominou Stemphylium solani, por **diferir** de outras espécies do mesmo gênero quanto à forma, **dimensão dos** conídios e conidióforos. Desde então, êste fungo tem sido assinalado em diversas regiões dos Estados Unidos. - ANDRUS (1940), ANDRUS (1941a), HARRISON (1941), SAMSON (1948), DIENER (1955b) e PAULUS (1955).

A ocorrência de Stemphylium solani em outras partes do mundo, segundo a literatura é a seguinte: Na ilha do Hawai HENDRIX e outros (1946) constatarem o fungo, mesmo antes de 1941; na Itália - CICARONE (1954); em Tanganica, na África, - WALLACE (1955); no Canadá - CONNERS (1955); na Colômbia - HELES (1957); em Sudam - TARR (1957); na ilha de Mauricius - ANÔN-

MO (1959); em Honduras - MULLER (1960); na Austrália, em Queensland - JOHNSON (1962) e na Nova Gales do Sul - ANÔNIMO (1963).

No Brasil, DESLANDES (1945) foi quem relatou a primeira ocorrência no Estado do Rio de Janeiro e fez considerações gerais sobre o fungo. Mais tarde, ROBBS (1954) fez um estudo mais detalhado sobre o assunto. LANDEIRO (1957) relatou a ocorrência no Estado do Espírito Santo. No Estado de São Paulo, este fungo embora pareça ocorrer há muitos anos, só foi citado em 1961 por TOKESHI e outros (1961).

Considerações gerais sobre esporulação de *Stemphylium solani*

WEBER (1930 e 1932) em seu trabalho sobre classificação fisiológica e patogenicidade de *Stemphylium solani*, relatou abundante esporulação em meio de batata-dextrose-agar, durante todo o período de suas pesquisas. As inoculações das plantas foram sempre feitas com os conídios obtidos no meio de cultura mencionado, além disso, Weber afirmou que em todos os meios por ele empregados ocorria abundante esporulação, sem a necessidade de utilizar técnicas especiais.

Mais tarde, ANDRUS e outros (1942), FRAZIER e outros (1946) e HENDRIX e outros (1946) tiveram dificuldades em obter esporulação em diversos meios estudados. Nesses trabalhos, as inoculações foram feitas com fragmentos de micélio e alguns conídios obtidos. Embora tivessem conseguido infecções, estes resultados não eram de muita confiança, por causa da fraca patogenicidade, quando comparados com as inoculações a partir dos conídios. Utilizando o processo de repicagem das culturas em placas de Petri a irradiação com raios ultra-violeta, HENDRIX e outros (1946) obtiveram uma produção razoável de conídios, em meio de batata-dextrose-agar. Usando o mesmo processo, DIENER (1952)

conseguiu abundante esporulação em meio de suco de verduras V-8, citando também que alguns isolamentos esporularam mesmo sem a utilização de raios ultra-violetas. O mesmo autor (1955) procurou estabelecer a concentração ótima do suco V-8, comprimento de ondas de raios ultra-violeta, tempo de exposição, distância da fonte luminosa, pH do meio e temperatura ótima, e -- chegando às conclusões de que melhor concentração do suco é de 16 a 20 por centos, o comprimento de ondas dos raios ultra-violeta de 312 a 546 mu, tempo de exposição 5 minutos, distância de 15 cm, temperatura a 26°C e pH do meio 6,2 a 8,0.

MEDEIROS (1957) para provocar a esporulação de Stemphylium solani, idealizou um processo usando meio de batata---dextrose-agar mais extrato de fôlha do tomateiro e iluminação das culturas com uma lâmpada comum de 120 velas, durante 4 horas, após a raspagem da superfície de cultura. Embora tivesse, inicialmente, obtido alta esporulação, segundo informações verbais do próprio autor, êsse resultado não foi confirmado em -- trabalhos posteriores.

Preservação de culturas do Stemphylium solani

A preservação de microorganismos "in vitro", sem alterações fisiológicas, morfológicas e patogênicas é um dos fatores importantes para os fitopatologistas e micólogos.

Na revisão da literatura sôbre o assunto, realizada por DOROTHY (1960), não consta qualquer citação específica sôbre êste fungo. WEBER (1930) preservou isolamento de Stemphylium solani em meio de batata-dextrose-agar, durante 5 anos, - período que durou suas pesquisas, fazendo repicagens periódicas, sem observar qualquer variação. Porém, observações realizadas por diversos autôres mostraram haver dificuldades em man

ter-se fungos dêsse gênero em culturas, sem alterações.

HESSELTINE e outros (1960) relataram que quando preservado pelo processo de liofilização, Stemphylium solani ainda mostrou alguma viabilidade, após 17 anos.

Posição sistemática

Quanto à posição sistemática, neste trabalho, seguiu-se a classificação de WILTSHIRE (1938), embora muitos autores como NEEGARD (1945), PATRICH (1964) e SIMMONS (1967) discordem em alguns pontos.

Pelo que foi exposto, embora na literatura mundial, haja vários trabalhos sobre Stemphylium solani, muito poucos foram dedicados ao estudo da variabilidade e preservação do mesmo.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Coleta de materiais para o isolamento

Diversas regiões do Estado de São Paulo foram percorridas, em diferentes ocasiões, para a coleta de folhas de tomateiro apresentando lesões de Stemphylium solani. Destas foram obtidas 33 culturas de 13 municípios, cuja relação consta da Tabela I.

TABELA I - Relação dos isolamentos de Stemphylium solani obtidos de diferentes municípios do Estado de São Paulo.

ISOLAMENTOS	MUNICÍPIOS	DATA DO ISOLAMENTO
T-273	Capão Bonito	13/09/1964
T-277	Capão Bonito	13/09/1964
T-280	Capão Bonito	13/09/1964
T-286	Capão Bonito	13/09/1964
T-289	Guapiara	16/01/1965
T-296	Guapiara	16/01/1965
T-299	Capão Bonito	16/01/1965
T-301	Capão Bonito	16/01/1965
T-305	Capão Bonito	16/01/1965
T-309	Capão Bonito	16/01/1965
T-315	Mogi-das-Cruzes	18/01/1965
T-319	Mogi-das-Cruzes	18/01/1965
T-321	Mogi-das-Cruzes	18/01/1965
T-347	Tatuí	13/04/1965
T-354	Itapetininga	13/04/1965
T-359	Biritiba-Mirim	14/05/1965
T-373	Indaiatuba	01/07/1965
T-377	Campinas	01/07/1965
T-378	Indaiatuba	01/07/1965
T-380	Indaiatuba	01/07/1965
T-381	Indaiatuba	01/07/1965
T-400	Mogi-das-Cruzes	13/12/1965
T-401	Mogi-das-Cruzes	13/12/1965
T-408	Jundiaí	03/01/1966
T-410	Piracicaba	16/01/1966
T-411	Piracicaba	16/01/1966
T-413	Capão Bonito	13/02/1966
T-414	Capão Bonito	13/02/1966
T-419	Capão Bonito	13/02/1966
T-420	Capão Bonito	13/02/1966
T-422	Sumaré	01/04/1966
T-423	Monte-Mór	21/04/1966
T-430	Capão Bonito	19/12/1966

2. Técnica de isolamento

As fôlhas com lesões de Stemphylium solani coletadas, foram colocadas em placas de Petri, esterilizadas, que serviram de câmara úmida. Após 15 a 18 horas, notava-se a presença de frutificações do fungo nas duas faces das lesões. Com o auxílio da lupa e de agulhas histológicas, 1 a 3 conídios eram então transferidos para 5 setores diferentes das caixas de Petri, contendo meio de batata-dextrose-agar. A seguir, examinava-se com lupa, os locais da transferência dos conídios para confirmar a presença dos mesmos. Três dias depois, quando o crescimento do micélio atingia cêrca de 2 cm de diâmetro, era feita repicagem para tubos, contendo o mesmo meio.

3. Meios de cultura para crescimento e esporulação

Para os isolamentos do fungo, foi sempre empregado o meio de batata-dextrose-agar (B.D.A.) e para a indução de esporulação foram utilizados os meios a e b cuja composição vem abaixo escrita.

meio a

Suco de tomate	100 ml
Dextrose	4,0 g
Extrato de levedura	0,26 g
Agar-agar	10,0 g
Glutamato de sódio	2,0 g
Batata	50,0 g
Água destilada	900 ml

meio b

Suco de folha do tomateiro ..	200 ml
Dextrose	4,0 g
Glutamato de sódio	0,26 g
Extrato de levedura	2,0 g

Agar-agar 10,0 g
Batata 50,0 g
Água destilada 800 ml

O pH dos meios foi ajustado ao redor de 6,5.

Conforme recomendação de COCHRANE (1958), a estes meios de cultura, foram acrescentados 5 níveis de tiamina (100, 200, 400, 600 e 800) em ppm.

Posteriormente, com a possibilidade da aquisição do suco de verduras V-8 e verificando as vantagens do meio à base deste suco, MILLER (1955), apenas este foi empregado no desenvolvimento de trabalho. Para a simplificação de texto, este meio será denominado de V-8 e tem a seguinte composição:

Suco vegetal V-8 200 ml
Carbonato de cálcio 3,0 g
Agar-agar 20,0 g
Água destilada 800 ml

Com pH ao redor de 6,5.

Para a indução de esporulação, foi utilizada a técnica recomendada por DIENER (1952 e 1955a), ligeiramente modificada como segue: fêz-se a raspagem da superfície de culturas com 5 dias de idade que foram, em seguida, irradiadas com raios ultra-violeta. Para esse fim, foi empregada uma lâmpada-tipo B-Black Raymaster 6322-F, com comprimento de ondas de .. 3.600 Å THOMAS (1961), durante 5 minutos, à distância de 15cm.

4. Comparações entre os isolamentos em diferentes meios de cultura

Partindo da hipótese da ocorrência de variações entre os isolamentos quanto às reações fisiológicas em diferentes meios de cultura, empregaram-se os meios B.D.A. e V-8 para estudar o problema.

5. Inoculações experimentais

Todos os ensaios foram desenvolvidos na casa de vegetação da Cadeira de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", com o controle parcial de umidade e temperatura.

Nesses experimentos, procurou-se investigar diversos aspectos de patogenicidade de Stemphylium solani.

Primeiro ensaio

Nesse ensaio, testou-se a patogenicidade de 16 isolamentos em relação aos tomateiros da variedade Santa Cruz. Estes testes foram efetuados em duas etapas, isto é, 8 isolamentos inoculados de cada vez, em diferentes épocas do ano. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, com 8 tratamentos e 8 repetições.

Segundo ensaio

Segundo WEBER (1930 e 1932), várias Solanáceas comuns entre nós são também hospedeiras desse fungo. Assim, o ensaio teve por finalidade, investigar a patogenicidade de alguns isolamentos para várias Solanáceas e comparar com os dados obtidos por Weber. Os isolamentos utilizados foram T-347, T-419, T-413, T-377, T-408 e T-422, e as Solanáceas ensaiadas foram as seguintes:

Tomate (Lycopersicum esculentum Mill.) variedade-Santa Cruz
Pimentão (Capsicum annum L.) variedade - Casca Dura
Giló (Solanum gilo Raddi) variedade - sem denominação
Beringela (Solanum melongena L.) variedade - Beringela Nacional
Datura (Datura stramonium L.)

Terceiro ensaio

Os dados da literatura indicam que algumas variedades de tomateiro reagem diferentemente ao ataque de Stemphylium solani FRAZIER e outros (1947). Por essa razão, o ensaio

constitui em inocular 4 variedades de tomateiro (Santa Cruz, Manalucie, Techunseh e Kolia-C) a fim de estudar as características patogênicas do isolamento T-347 que diferia em seu aspecto cultural dos demais isolamentos, exceto T-419. Esse ensaio foi delineado em blocos casualizados com 4 tratamentos e 4 repetições.

5.1. Preparo de Mudanças

Para os ensaios, o modo de preparação das mudas variou de acordo com a finalidade do teste.

No primeiro e segundo ensaios, a semeadura foi efetuada em caixas sementeiras, com solo previamente esterilizado. Dez dias após a germinação, as mudas foram transplantadas para vasos de barro cujas dimensões eram as seguintes: 15 cm de diâmetro na boca, 10 cm na base e 12 cm de altura. Em cada vaso foram transplantadas 5 plântulas para serem inoculadas 15 dias após.

No terceiro ensaio, semearam-se 4 caixas sementeiras medindo 43 x 35 x 10 cm, com as variedades de tomateiro, Santa Cruz, Manalucia, Techunseh e Kolia-C, de modo que cada caixa constitua uma repetição, contendo 2 linhas de cada variedade. Foi estabelecido para inoculação, a época em que as plântulas apresentavam, pelo menos 2 folhas verdadeiras.

5.2. Preparo de inóculo

Utilizando-se o processo de indução de esporulação descrito no item 3 (exceto para os isolamentos T-347 e T-419 que esporulavam sem técnicas especiais), com uma alça de platina fez-se a raspagem dos conídios formados sobre o meio, acrescentando a cada placa de Petri, 20 ml de água destilada e 2 gotas de espalhante adesivo (Triton-X 114 a 0,1%). Obtinha-se assim uma suspensão de esporos com alguns fragmentos de mi-

célio.

5.3. Método de inoculação

As inoculações foram feitas por aspersão das suspensões de esporos e fragmentos de micélio com o atomizador de De Vilbiss, acoplado a um compressor de ar através de tubo de borracha, formando assim, um burrifo bastante fino.

5.4. Critério de avaliação dos resultados das inoculações

Para a avaliação dos resultados das inoculações, no primeiro e segundo ensaios, as leituras foram sempre efetuadas 5 dias após as inoculações, levando-se em consideração o número de lesões por planta, de acordo com a seguinte escala de notas:

<u>Número de lesões</u>	<u>Notas</u>
0	0
1 a 5	1
6 a 10	2
11 a 15	3
16 a 20	4
superior a 20	5

No terceiro ensaio também eram feitas leituras, 5 dias após as inoculações, porém devido ao pequeno porte das plantas, foi empregada a seguinte escala de notas:

<u>Número de lesões</u>	<u>Notas</u>
0	0
1 a 3	1
4 a 6	2
7 a 10	3
11 a 14	4
superior a 14	5

5.5. Reisolamentos

Após tôdas as inoculações, foram realizados reisolamentos, a fim de verificar o comportamento das culturas as sim obtidas em comparação com as culturas originais. A técnica empregada foi sempre aquela já descrita, anteriormente para i- solamentos.

6. Conservação das culturas

Para isto, foram tentadas diversas técnicas, sen do que algumas basearam-se em informações coletadas na literatura e outras, foram idealizadas pelo autor.

Os métodos utilizados foram os seguintes:

a) Repicagem periódica

Êste é o método clássico mais comumente empregado na preservação de microorganismos. Nestes ensaios, V-8 foi o meio utilizado, sendo as repicagens, realizadas cada 2 a 3 meses.

b) Conservação do fungo em estado conidial

Em virtude da dificuldade de se preservar coní- dios de Stemphylium solani, em consequência de sua rápida germinação, quando predominam condições de umidade elevada, procu rou-se contornar êsse problema, idealizando o processo para a desidratação dos mesmos.

Para êste fim, preparou-se uma câmara (caixa) de madeira, hermèticamente fechada, feita com tábuas encaixadas - umas nas outras, em cujas arestas internas eram colocadas ti- ras de borracha para impedir a entrada do ar. Para o fechamento da câmara, a tampa disposta lateralmente era forrada com -- borracha e pressionada com 4 parafusos colocados no corpo da - caixa. Na face superior foi colocada uma torneira à qual foi - acoplada uma bomba de vácuo, obtendo assim, vácuo parcial. No

interior da câmara assim constituída, foi também colocada certa porção de sílica-gel para diminuir a umidade relativa.

As placas de Petri abertas contendo culturas esporuladas de Stemphylium solani eram encerradas no interior da câmara e em seguida, ligava-se a bomba de vácuo, a fim de se provocar uma rápida desidratação. Depois de 24 horas, os conídios eram coletados e preservados secos em tubos de ensaios, - tamponados com algodão.

c) Conservação em solo estéril

O método empregado foi idealizado por Mc KEEN e outros (1962) para Fusarium oxysporum. Consiste em preparar tubos contendo solo arenoso mais 10% de estêrco, sendo a seguir, acrescida certa porção de água e feita a esterilização. Depois da esterilização, o fungo é inoculado e após um bom desenvolvimento da cultura, os tubos eram guardados em local com temperatura baixa.

d) Conservação em tubos contendo meio V-8, sem repicagem

Neste caso, foram utilizados tubos contendo meio-V-8 com superfície inclinada e horizontal. As culturas foram - repicadas e mantidas à temperatura ambiente por 2 semanas e, - então, transferidas para uma câmara à temperatura de 15°C. De tempo em tempo, realizaram-se repicagens para investigar a via bilidade e possível variação dos isolamentos.

7. Análises estatísticas

As análises estatísticas dos ensaios foram efetuadas seguindo-se os métodos recomendados por PIMENTEL GOMES -- (1963).

IV - RESULTADOS E DISCUSSÕES

1. Técnica de isolamento

O método empregado no presente trabalho, permitiu isolamento fácil e sem problema de contaminações, demonstrando assim esta técnica de isolamento ser bastante eficiente. Além disso, após a transferência dos conídios para as caixas de Petri, com o auxílio da lupa, foi sempre possível confirmar a presença dos mesmos, nos pontos para os quais eles foram transferidos, permitindo uma boa precisão nos isolamentos.

Esta técnica quando comparada com a de transferência de tecidos doentes utilizados por DIENER (1955a), MEDEIROS (1957) e outros e de diluição de conídios em placas contendo meio, utilizada por WEBER (1930 e 1932), apresenta com vantagens, a ausência de contaminação, uma vez que se transfere quase que exclusivamente os conídios, e a possibilidade de confirmar sua presença e reconhecimento no meio de cultura no ato de sua transferência, em virtude do seu porte relativamente grande.

Esta técnica pode também ser estendida a outros fungos que apresentam como Stemphylium solani, esporos relativamente grandes. Assim, quando experimentada para Septoria lycopersici Speg. e Alternaria solani (Ell. & Mart.) Jones & Grant, foram obtidos ótimos resultados. Talvez, as únicas desvantagens desse método sejam sua inaplicabilidade, quando não se verificam frutificações do fungo sobre as lesões e quando os esporos do fungo a ser isolado são demasiadamente pequenos.

2. Meios de cultura para crescimento e esporulação

Os meios de suco de tomate e suco de folhas de tomateiro, mesmo com o acréscimo de tiamina, não deram resulta

dos satisfatórios, embora a esporulação aumentasse com a elevação do nível de tiamina.

O meio idealizado por DIENNER (1952) com base no suco de verduras, V-8 funcionou realmente melhor para todas as culturas obtidas. Na indução de esporulação o mesmo meio também foi bastante eficiente, havendo porém, conforme os isolamentos, variações na esporulação e crescimento. Os isolamentos T-347 e T-419 comportaram-se de modo muito diferente dos outros isolamentos. Assim, no terceiro dia, a partir da repicagem, já mostravam frutificações intensas, sem o uso de qualquer técnica especial. As culturas tornavam-se escuras, devido à grande quantidade de conídios formados em suas superfícies. Os isolamentos, T-277, T-299, T-359, T-377 e T-413 esporulavam de maneira precária; porém, quando irradiados, mostravam frutificações abundantes. Os isolamentos, T-273, T-280, T-286, T-289, T-296, T-301, T-305, T-309, T-315, T-319, T-321, T-354, T-373, T-378, T-380, T-381, T-400, T-401, T-408, T-410, T-411, T-414, T-420, T-422, T-423 e T-430, esporulavam muito pouco e apenas após terem submetidos à irradiação.

3. Comparações entre os isolamentos em diferentes meios de cultura

Fazendo-se a comparação dos aspectos culturais entre os isolamentos desenvolvidos em meios B.D.A. e V-8, observou-se que dentro do mesmo meio houve uma variação relativamente grande, porém os mesmos isolamentos variaram muito pouco em meios diferentes. Os detalhes destes aspectos constam dos Clichês A e B.

De acordo com os resultados obtidos com base no meio V-8, foi possível classificar os isolamentos quanto

ao aspecto da esporulação nos seguintes grupos:

Grupo A - Compreende os isolamentos que esporulam abundantemente em qualquer dos meios empregados, com ou sem irradiação. Pertencem a êste grupo os isolamentos T-347 e T-419.

Grupo B - Todos os isolamentos que apresentam pequena esporulação no meio V-8, sem irradiação e que esporulam abundantemente após esta. Pertencem a êste grupo os isolamentos, T-277, T-299, T-359, T-377 e T-413.

Grupo C - Todos os isolamentos que só esporulam em meio V-8 quando irradiados e em pequena quantidade. Pertencem a êste grupo os isolamentos, T-273, T-280, T-286, T-289, T-296, T-301, T-305, T-309, T-315, T-319, T-321, T-354, T-373, T-378, T-380, T-381, T-400, T-401, T-408, T-410, T-411, T-414, T-420, T-422, T-423 e T-430.

Comparando-se o fungo descrito por WEBER (1929, 1930 e 1932), com os isolamentos do grupo A (T-347 e T-419) verifica-se que são muito semelhantes em suas características, isto é, esporulam em quaisquer meios utilizados, mesmo sem irradiação e mantêm-se sem variação morfológica, fisiológica ou patogênica. Além disso, estampas apresentadas por WEBER (1932), de culturas desenvolvidas em meio B.D.A. mostram aspectos culturais bastante semelhantes com os dos isolamentos T-347 e T-419, conforme se observam no Clichê A e B. Entretanto o mesmo não ocorre quando se compara o fungo descrito por WEBER com os demais isolamentos pertencentes aos grupos B e C que possuem características culturais distintas e quase não esporulam espontaneamente. Neste particular, talvez esteja a explicação dos dados discordantes obtidos por ANDRUS e outros (1942), HENDRIX e outros (1946) e FRAZIER e outros (1946) que não obtiveram esporulação espontânea em seus isolamentos. Provavelmente êstes

autôres trabalharam com os isolamentos de Stemphylium solani, que poderiam ser incluídos nos grupos B ou C, isto é, com menor capacidade de esporulação.

A ocorrência citada por DIENER (1952), de algumas esporulações espontâneas no meio V-8 provavelmente foi devido a ele ter usado em seus trabalhos, alguns isolamentos que poderiam ser considerados do grupo B.

O fato de MEDEIROS (1957) ter conseguido com seu método, abundante esporulação e em trabalhos posteriores não obter os mesmos resultados, também pode ser atribuído à essa causa isto é, no trabalho inicial ter empregado um isolamento do grupo B e nos trabalhos posteriores, isolamentos do grupo C, que - aliás, mais frequente, conforme se observa no ítem anterior. Entretanto, para a confirmação destas hipóteses, seria necessário realizar um trabalho mais detalhado de comparações dos isolamentos.

4. Inoculações experimentais

4.1. Teste de patogenicidade com 16 isolamentos.

Nas duas etapas do teste de patogenicidade realizado, em tomateiro da variedade Santa Cruz, todos os isolamentos mostraram-se patogênicos. Nas leituras dos resultados, os isolamentos T-347 e T-419, mostraram-se muito mais patogênicos do que os outros, como podem ser observados nas Tabelas II e III.

A análise estatística preliminar da Tabela III, mostrou ser significativa estatisticamente ao nível de 1% de probabilidade. Entretanto, nesse caso, é interessante destacar alguns isolamentos mais patogênicos e os dados da Tabela III, permitiram agrupá-los em duas populações, isto é, T-347 e T-419 formando uma população que foi designada de X e os 6 isolamentos restantes, formando outra população que foi designada de Y.

TABELA II - Resultados da inoculação de 8 isolamentos de S.solan
ni, em tomateiro da variedade Santa Cruz. Os números expressos-
representam a média das notas atribuídas às plantas contidas em
um vaso (5 plantas).

Isolamentos	R e p e t i ç õ e s (*)								Média
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-273	3	3	4	2	3	3	3	4	3,15
T-277	4	5	4	3	4	2	3	4	3,87
T-286	3	2	1	4	3	3	2	3	2,62
T-289	4	3	3	2	3	4	3	3	3,15
T-299	5	4	4	3	4	3	3	3	3,87
T-305	2	1	4	3	2	1	2	3	2,25
T-309	3	3	2	4	3	3	1	2	2,62
T-319	4	5	3	4	2	3	1	2	3,00

(*) A escala de nota variou de 0 a 5.

TABELA III - Resultados da 2ª etapa de inoculações, realizada -
com 8 isolamentos em tomateiros da variedade Santa Cruz. Os nú-
meros expressos representam a média das notas atribuídas às ---
plantas contidas em um vaso (5 plantas).

Isolamentos	R e p e t i ç õ e s (*)								Média
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-419	4	5	5	4	3	5	4	5	4,38
T-347	5	4	5	5	4	5	5	5	4,75
T-354	3	3	4	2	3	3	2	4	3,00
T-359	4	2	3	4	3	3	4	3	3,25
T-373	4	4	3	4	4	2	3	4	3,50
T-380	2	3	1	3	2	3	2	3	2,38
T-381	3	3	3	2	3	2	3	3	2,75
T-408	3	4	3	2	4	3	3	2	3,00

(*) A escala de notas variou de 0 a 5.

TABELA IV - Análise de variância da TABELA II.

Ensaio de patogenicidade de 8 isolamentos na variedade Santa Cruz.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamento	7	13,25	1,89	2,39 *
Bloco	7	7,75	1,11	1,40
Resíduo	49	39,00	0,79	
Total	63	60,00		

(*) Significativa ao nível de 5%

Valor da significância do F: a 5% 2,21
a 1% 3,04

Para teste de Tukey: a 5% 1,09
a 1% 1,29

Portanto, na patogenicidade dos isolamentos houve uma variação entre êles, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA V - Análise de variância da TABELA III.

Ensaio de patogenicidade de 8 isolamentos na variedade Santa - Cruz. Para análise, foram separados em 2 populações: isolamento que forneceram médias de notas maiores e isolamentos que -- forneceram medias de notas menores.

Causas da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Dentro X	1	0,57	0,57	1,12
X vs. Y	1	30,08	30,08	58,98 **
Dentro Y	5	6,11	1,22	2,39 *
(Tratamento)	(7)	(36,76)		
Bloco	7	1,25	0,18	,35
Resíduo	49	25,00	0,51	
Total	63	63,01		

* - Significativa ao nível de 5%

** - Significativa ao nível de 1%

X - População a que pertencem os isolamentos T-347 e T-419.

Y - População a que pertencem os 6 isolamentos restantes.

Valor de significância: $\left[\begin{array}{l} \text{a } 5\% \dots\dots\dots 2,21 \\ \text{a } 1\% \dots\dots\dots 3,04 \end{array} \right.$

Para teste de Tukey: $\left[\begin{array}{l} \text{a } 5\% \dots\dots\dots 1,09 \\ \text{a } 1\% \dots\dots\dots 1,29 \end{array} \right.$

Portanto, as comparações entre X vs. Y são altamente significativas ao nível de 1% de probabilidade.

De acôrdo com os resultados da análise estatística efetuada com os dados obtidos nestes testes, pode-se verificar que, na primeira etapa do experimento realizado com 8 isolamentos, êstes pouco se diferiram entre si quanto a patogenicidade (TABELA IV). Na segunda etapa do ensaio, verificou-se que os isolamentos T-347 e T-419 demonstraram ser diferentes de 6 isolamentos restantes, pertencendo a outra população, ao nível de 1% de probabilidade de acôrdo com o quadro de variância apresentado na TABELA V.

4.2. Suscetibilidade das variedades de tomateiro

Os resultados dêste teste é apresentado na Tabela VI.

A Tabela VI mostra que as três variedades (Manalucie, Techunseh, Kolia-C) consideradas resistentes nos Estados Unidos comportaram-se como tal, quando comparadas com a variedade Santa Cruz.

TABELA VI - Resultados das inoculações do isolamento T-347, em 4 variedades de tomateiro, expressos em escalas de nota (*)

Repetições	V A R I E D A D E S																						
	Santa Cruz (1)					Manalucie (2)					Techunsen (2)					Volia-C (2)							
	ESCALAS					ESCALAS					ESCALAS					ESCALAS							
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
1	-	-	-	-	-	17	22	-	-	-	-	34	5	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-
2	-	1	-	-	-	10	15	5	2	-	-	35	12	2	-	-	-	12	1	5	-	-	-
3	-	-	-	-	-	9	12	1	-	-	-	31	1	-	-	-	-	18	2	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	11	28	2	-	-	-	34	11	2	-	-	-	19	5	6	-	-	-
5	-	-	-	-	-	8	19	-	-	-	-	33	3	-	-	-	-	32	7	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	9	18	3	-	-	-	33	11	3	-	-	-	25	1	-	-	-	-
7	-	-	3	-	-	18	21	1	-	-	-	34	1	-	-	-	-	17	3	-	-	-	-
8	-	2	-	-	-	12	13	2	1	-	-	29	4	-	-	-	-	16	12	2	-	-	-
Nº de plantas	0	3	0	3	0	94	158	14	3	0	0	263	48	7	0	0	0	159	32	13	0	0	0
Nº total de plantas	100					175					318					204							

(*) - Escalas de nota varia de 0 a 5.
 (1) - Variedade suscetível a S. solani.
 (2) - Variedade resistente a S. solani.

4.3. Suscetibilidade de diferentes Solanáceas

As inoculações de 6 isolamentos em diversas Solanáceas demonstraram que o tomate Santa Cruz, giló, pimentão, - são suscetíveis a Stemphylium solani. Datura mostrou algumas manchas iniciais mas nunca ocorrendo evolução das mesmas. A beringela mostrou-se imune em tôdas as inoculações, jamais ocorrendo lesões causadas por êste fungo, nas condições em que os testes foram efetuados.

Os resultados das observações constam da Tabela-VII.

TABELA VII - Resultados das inoculações de diferentes isolamentos em diversas Solanáceas.

Isolamentos	Solanáceas testadas (*)				
	Beringela	Datura	Giló	Pimentão	Tomate (**)
T-347	I	R	S	S	S
T-419	I	R	S	S	S
T-299	I	R	S	S	S
T-377	I	R	S	S	S
T-408	I	R	S	S	S
T-413	I	R	S	S	S

(*) I = Imune ; R = Resistente ; S = Suscetível

(**) Variedade Santa Cruz

Êsses resultados mostraram que os isolamentos do grupo A (T-347 e T-419) não podem ser separados dos demais grupos, com base nestes hospedeiros.

Comparando êstes dados com aquêles obtidos por WEBER (1930 e 1932) nota-se estreita concordância na suscetibilidade com relação a tomate, pimentão, giló e Datura. Porém, no presente ensaio, apesar de várias inoculações efetuadas, jamais conseguiu determinar qualquer patogenicidade para beringela. Êste dado discorda daquêle obtido por WEBER (1930 e 1932) que a classificou como suscetível. Entretanto, talvez isso possa ser atribuído ao fato de se tratarem de variedades distintas.

4.4. Reisolamentos

Nos reisolamentos realizados, em tôdas as culturas, repetiram-se as características culturais originais.

A invariabilidade dos reisolamentos em relação às culturas originais indica que as culturas obtidas são bastante estáveis, assim, êste resultado vem reforçar a classificação das culturas em grupos, realizada anteriormente.

5. Conservação das culturas

As tentativas para a preservação dos isolamentos, em estado conidial, não foram bem sucedidas, devido ao método utilizado não provocar uma desidratação suficientemente rápida que impedisse a germinação dos conídios.

Em solo estéril, após 6 meses de preservação, o fungo não se desenvolveu mais, quando repicado para os meios usuais.

Usando-se tubos com meio V-8, jamais se notou qualquer variação, no método de repicagens periódicas e sucessivas, durante mais de 2 anos em que os trabalhos foram desenvolvidos.

Nos tubos não repicados com superfície do meio inclinado ou horizontal, deixados à temperatura de 15°C, as culturas mostraram-se viáveis ainda, após aproximadamente 14 meses. Em ambos os casos, não se observaram quaisquer variações morfológicas ou fisiológicas. Como êste assunto é de grande importância, é preciso realizar estudos mais detalhados.

6. Discussão final

Os resultados das análises estatísticas dos isolamentos demonstraram existir diferentes graus de patogenicidade e seus reisolamentos e sucessivas repicagens provaram-

a invariabilidade das características culturais.

De acôrdo com STAKMAN (1957), associando êsses dados com a classificação dos isolamentos feita em 3 grupos, -- com base na esporulação em meios de cultura, a classificação - pode seguramente ser estendida ao nível de raças fisiológicas de Stemphylium solani Weber. Assim, os isolamentos do grupo A pertenceriam à raça-1, os do grupo B, à raça-2 e os do grupo C à raça-3.

Os diversos isolamentos utilizados no presente trabalho podem ser separados de acôrdo com a chave dicotômica abaixo, para classificação das raças fisiológicas de Stemphylium solani (Tabela VII).

Chave dicotômica

- A - Com esporulação espontânea
 - 1 - abundante em qualquer meio, sem a irradiação com ultra-violeta raça-1.
 - 2 - esparsa em meio V-8, abundante, após irradiação com ultra-violeta raça-2.
- B - Sem esporulação espontânea
 - 1 - em meio V-8, somente pequena esporulação, após irradiação com ultra-violeta .. raça-3.

A raça-1 possui elevada patogenicidade que as demais raças, quando inoculada em tomateiro suscetível.

A raça-2 da raça-3 não consegue ser separadas, com base na patogenicidade em tomateiro suscetível.

TABELA VIII - Agrupamento de isolamentos obtidos, segundo às raças fisiológicas de Stemphylium solani.

raça-1	T-347, T-419
raça-2	T-277, T-299, T-359, T-377, T-413
raça-3	T-273, T-280, T-286, T-289, T-296, T-301, T-305, T-309, T-315, T-319, T-321, T-354, T-373, T-378, T-380, T-381, T-400, T-401, T-408, T-410, T-411, T-414, T-420, T-422, T-423, T-430.

V - CONCLUSÕES

Dos dados obtidos no presente trabalho podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1 - A classificação dos isolamentos em grupos pode, com segurança, ser estendida ao nível de raças fisiológicas de Stemphylium solani.

2 - A raça-1, pelo fato de produzir conídios com facilidade em meios usuais e em grande quantidade, e possuir alto grau de patogenicidade é de grande utilidade para desenvolver programas de melhoramento.

3 - Ocorrem pelo menos, três raças fisiológicas de Stemphylium solani, no Estado de São Paulo.

4 - A técnica de isolamento aqui aplicada é vantajosa em relação às técnicas empregadas anteriormente, por outros autores.

5 - Stemphylium solani pode ser conservado simplesmente em tubos de cultura com meio V-8, sem repicagem, pelo menos durante 14 meses.

VI - R E S U M O

O presente trabalho trata sôbre o estudo da variabilidade do fungo Stemphylium solani Weber, agente causador da mancha foliar do tomateiro, "mancha de estenfilium", que está se tornando cada vez mais importante em tôda área, onde se cultiva o tomate.

O autor isolou 33 culturas de Stemphylium solani, de 13 municípios do Estado de São Paulo e estudou suas capacidades de esporulação em meios de cultura, suas patogenicidades em 5 diferentes Solanáceas, aspectos de culturas em -- meios B.D.A. e V-8 e métodos de preservação das mesmas.

O modo de esporulação dos isolamentos variou -- bastante e reisolamentos e repicagens sucessivas efetuados mostraram que todos os isolamentos mantiveram as características-culturais originais.

Dois isolamentos (T-347 e T-419) comportaram-se de maneira bastante diferente dos demais isolamentos. Assim, êstes esporulavam espontânea e abundantemente em quaisquer --- meios, e nos testes de patogenicidade em tomate Santa Cruz, as análises estatísticas demonstraram possuírem elevada patogenicidade.

Com base na capacidade de esporular em meios de cultura, patogenicidade em tomateiro suscetível e invariabilidade das características culturais, o autor propôs a classificação de Stemphylium solani, em 3 raças fisiológicas e discute sua importância na interpretação de dados divergentes da literatura. Além disso, chama a atenção para as culturas patogênicas capazes de esporular espontâneamente em meio B.D.A. e suas

aplicações nos trabalhos de melhoramento do tomateiro. Das 5 Solanáceas testadas (tomate, pimentão, giló, beringela e Datura), 4 apresentaram reações idênticas às obtidas por outros -- autôres, porém, a beringela mostrou ser imune, discordando com os dados da literatura.

Quanto ao método de preservação de culturas, de--- mostrou ser possível mantê-las invariáveis, sem repicagem, em meio V-8, pelo menos, cêrca de 14 meses.

VII - SUMMARY

The present work deals with the studies of variability of Stemphylium solani Weber, the causal agent of gray leaf spot of tomatoes. This disease is becoming very important in all the areas where tomatoes are cultivated.

Thirty-three isolates of Stemphylium solani were obtained from 13 different districts of the State of Sao Paulo. Morphological and physiological characters such as cultural aspect in PDA and V-8 culture media, sporulation, and pathogenicity on 5 different Solanaceae were studied. Cultural preservation methods have also been considered.

Sporulation varied from one isolate to the others, but the characteristics of each isolate were consistently maintained through reisolation from inoculated material and transfers to new media.

Two isolates (T-347 and T-419) behaved very differently from the others, both in sporulation and

pathogenicity. These isolates sporulated abundantly and spontaneously, and their pathogenicity was significantly higher.

Based on the capacity of sporulation in the culture media, pathogenicity, and cultural characteristics the classification of Stemphylium solani in 3 physiological races is here proposed. This classification may help explaining divergent data obtained by other authors. Furthermore, the pathogenic isolates capable of spontaneous sporulation in PDA can be used more properly on tomato breeding programs.

On the pathogenicity tests, four of the five tested Solanaceae presented the same type of reaction found by other authors. Only eggplant showed to be immune, and this result disagrees the results found in the literature. The results obtained by the preservation method on V-8 medium showed that it is possible to keep the isolates invariable, without periodic transfers at least for 14 months.

VIII - LITERATURA CITADA

- ANDRUS, C.F. - 1940 - Tomato Defoliation Diseases. U.S. Dept. Agr. Pl. Dis. Rptr. 24:475-476.
- - 1941 - Geographical Extention of *Stemphylium solani* on Tomatoes. U.S. Dept. Agr. Pl. Dis. Rptr. 25:445-446.
- , -G.B. REINARD e B.L. WADE - 1942 - Relative resistance of Tomato varieties and Crosses to Defoliation by *Alternaria* and *Stemphylium*, U.S. Dept. of Agr. Circular nº 652.
- ANÔNIMO - 1959 - Plant Pathological Division Rep. Dept. Agric. - Mauritius, 1958:38-40. (Resumo em RAM, 39 : 373).
- ANÔNIMO - 1963 - New Plant Diseases, Interception in Quarantine. Agric. Gaz. N.S.W. 74:716-720.
- CICCARONE, A. - 1954 - Outbreaks and New records. Italy FAO -- Pl. Prot. Bull. 3:11-12 (Resumo em RAM, 34 : 618).
- COCHRANE, V.W. - 1958 - Physiology of Fungi - New York, John -- Wiley & Sons Inc. 524 pp.
- CONNERS, I.L. - 1955 - Thirty-Fifty Annual Report of the Cana-- dian Plant Disease Survey (Resumo em RAM, - 35:876).
- DESLANDES, J.A. - 1945 - Fatos sôbre doenças do tomateiro. Min. - da Agr. Serviço de Documentação S.D.A. 253: 11-18.
- DIENER, U.L. - 1952 - A method for Inducing Abundant Sporulation of *Stemphylium solani* in pure culture. Phytopathology, 42:7 (Abst.).
- - 1955a - Sporulation in pure culture by *Stemphylium solani*. Phytopathology, 45:141-145.
- - 1955b - Host Penetration and Pathological Hystology in Gray leaf spot of Tomato. Phytopathology, 45:654-658.
- DOROTHY, F. - 1960 - Conservation of Fungus Cultures. The Botanical Review, 26:80-124.
- FRAZIER, W.A.; K. KIKUTA; J.S. Mc FARIANE e J.W. HENDRIX - 1946 - Tomato Improvement in Hawaii, Proc. Am. Hort. - Sci. 47:277-284.
- ; K. KIKUTA e J.W. HENDRIX - 1947 - Breeding Tomatoes for Combined Resistance to *Fusarium* wilt, - Spotted wilt and Gray Leaf Spot in Hawaii. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 49:235-240.
- JOHNSON, J.C. - 1962 - Gray Leaf Spot of Tomatoes. Qd. Agric. -- Jour. 88:113 (Resumo em RAM, 41:548).

- HARRISON, A.L. - 1941 - Plant Pathology and Physiology. Rep. Tex. Agric. Exp. Sta., 1941:64-73 (Resumo em RAM, 22 : 54).
- HENDRIX, J.W.; K. KIKUTA e W.A. FRAZIER - 1946 - Breeding Tomatoes for Resistance to Gray leaf spot in Hawaii. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 46:294-300.
- HESSELTINE, C.W.; J.B. BARBARA e C.R. BENJAMIN - 1960 - Further Investigation the Preservation of Molds. Mycologia, 52:762-774.
- LANDEIRO, R. - 1957 - A mancha ferruginosa do Tomateiro. Boletim Fitossanitário, 7:1-2 (Resumo em RAM, 38 : 102).
- Mc KEEN, C.D. e R.N. WENSLEY - 1962 - Longevity of Fusarium oxysporum in soil tube culture. Science, 134 : 1528-1529.
- MEDEIROS, A.G. - 1957 - Processo para Induzir Esporulação de Stemphylium solani Weber, em cultura pura. Instituto de Ecologia e Exp. Agrícolas - Comunicado Técnico nº 2.
- MILLER, P.M. - 1955 - V-8 juice agar as a general purpose medium for Fungi and Bacteria. Phytopathology, 45:461-462.
- MULLER, A.S. e D.A. ROBERT - 1960 - Plant Disease Record at Zamorano, Honduras II August 1960. Ceiba, 9:49-54 (Resumo em RAM, 41:128).
- NEEGARD, A. - 1945 - Danish Species of Alternaria and Stemphylium. Taxonomy, Parasitism, Economical significance. Einar Munkegard, Publisher, Copenhagen, 560 pp.
- PAULUS, A.O. e G.S. POUND - 1955 - Effect of air temperature on inciation and Development of Gray leaf spot - and Nailhe and spot of Tomato. Phytopathology, 45:167-174.
- PATRIC, J. - 1964 - Le genre Alternaria. Edition Paul Lechevalier, 250 pp.
- PIMENTEL GOMES, F. - 1963 - Curso de Estatística Experimental, 2ª edição - Piracicaba - São Paulo - 384 pp.
- REYES LEAL - 1957 - Enfermedades del Tomate en el Valle del Cauca. Acta. Agro. Palmira, 7:193-221 (Resumo em RAM, 38:37).
- ROBBS, C. - 1954 - A mancha de Stemphylium do Tomateiro e sua ocorrência no Distrito Federal - Ano 1 nos 1-2 :17-25.
- SAMSON, R.W. - 1948 - Stemphylium solani on Tomatoes in Indiana. Plant Disease Report, 32:51.

- SIMMONS, E.G. - 1967 - Typification of Alternaria, Stemphylium - and Ulocladium, Mycologia, 59:67-98.
- STAKMAN, E.C. e J.G.HARRAR - 1957 - Principle of Plant Pathology. The Ronald Press Company - New York, 581pp.
- TARR, S.A.J. - 1957 - Recent Observations on Plant Disease in the Sudan - FAO Pl.Bull., 5:188-190 (Resumo em - RAM, 27:202).
- THOMAS, A. COMPANY - 1961 - Scientific Apparatus and Reagents - Arthur Thomas Company, Philadelphia-U.S.A. Edition of 1961 - 1034 pp.
- TOKESHI, H.; F.GALLI; M.DIAS e I.IKUTA - 1961 - Doenças de hortaliças no Estado de São Paulo. Olericultura, 1: 80-84.
- WALLACE, G.B. - 1955 - Annual Report of the Plant Pathology, Lyamungu, Moshi, for the year 1954. Rep. Dep. Agric. Tanganika, 1954:70-76 (Resumo em RAM, 35:163).
- WEBER, F.G. - 1929 - A Stemphylium leaf spot of Tomatoes. Phytopathology, 19:29.
- - 1930 - Gray leaf spot of Tomato caused by Stemphylium solani sp. nov. Phytopathology, 20:513-518.
- S. HAWKINS e D.G.A. KELBERT - 1932 - Gray leaf spot, a new disease of Tomatoes. Univ. of Fla. Agric. Exp. Sta. Gainesville, Florida - Technical Bull. nº 249:5-34.
- WILTSHIRE, S.P. - 1958 - The Original and Modern Conception of Stemphylium - Brit. Mycol. Soc. Trans., 21:211-239.

IX - AGRADECIMENTOS.

O autor consigna seus sinceros agradecimentos:

Ao Professor Ferdinando Galli, Catedrático da 11ª Cadeira, Fitopatologia e Microbiologia, pela revisão dos originais.

Ao Professor Hasime Tokeshi, Docente-livre da 11ª Cadeira, pela orientação, apóio e sugestões, durante a realização do trabalho e confecção da tese.

Ao Engenheiro Agrônomo, Mário Barreto Figueiredo, Assistente da Seção de Fitopatologia Geral do Instituto Biológico, pelas sugestões e auxílio, durante a redação da tese.

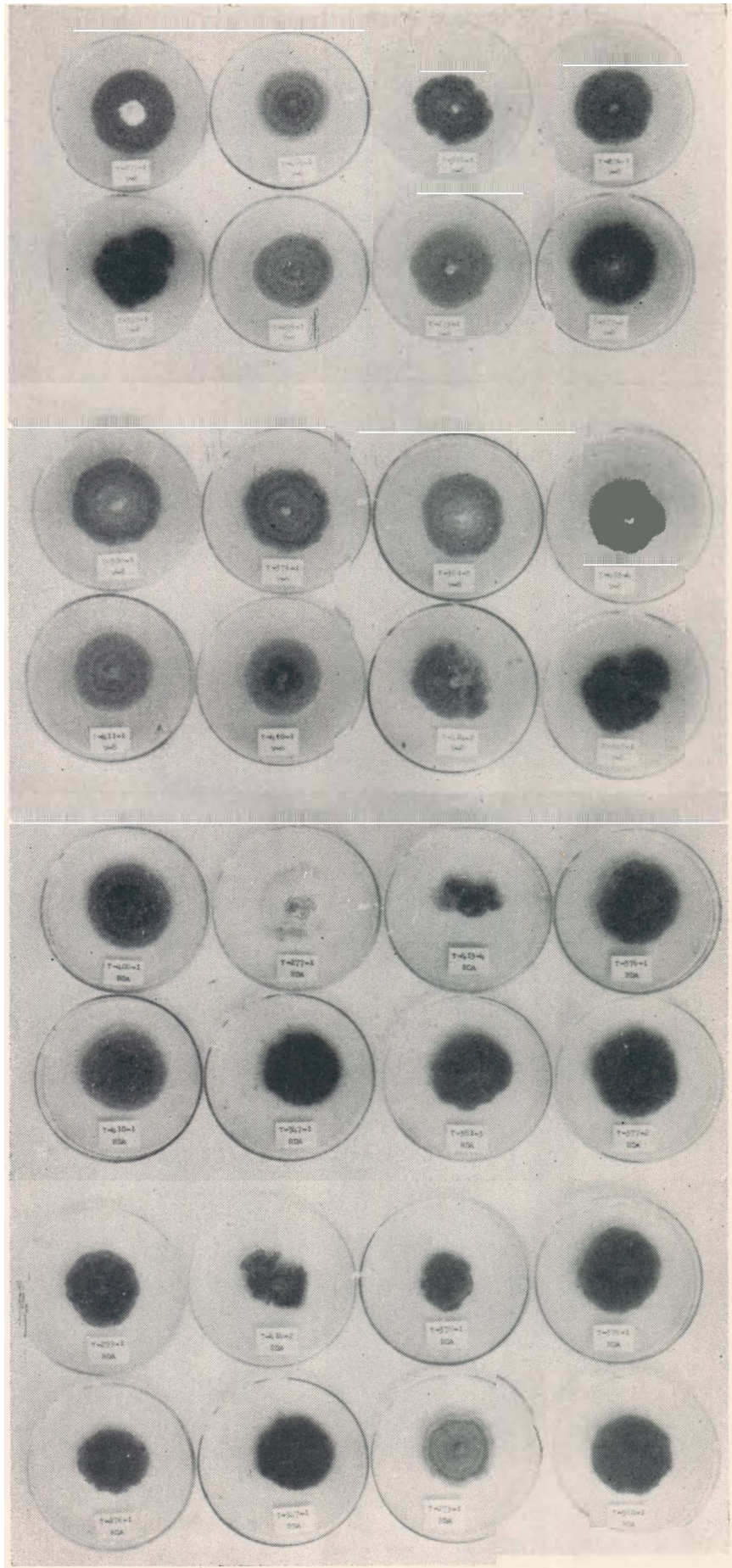
Ao Engenheiro Agrônomo, Shukichi Kurozawa, Bolsista da 11ª Cadeira, pelas colaborações indispensáveis prestadas na execução dos trabalhos.

Ao Engenheiro Agrônomo, Caio Otávio Nogueira Cardoso, Instrutor da 11ª Cadeira, pelas fotografias para ilustração dos dados do trabalho.

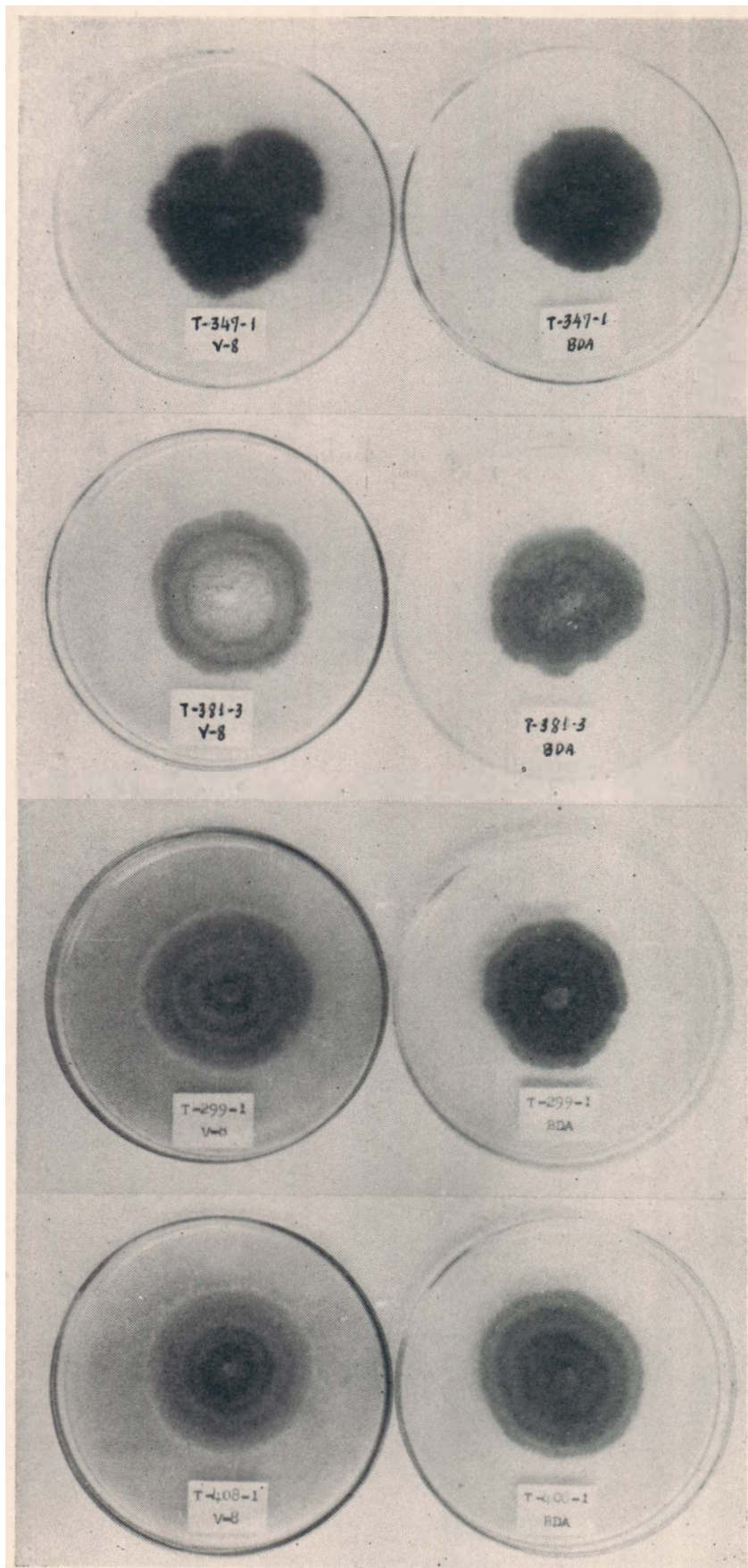
À Dra. Victória Rossetti, Chefe da Seção de Fitopatologia Geral do Instituto Biológico, pelo apóio, pela disposição das facilidades para a execução da tese e auxílio na redação do sumário inglês.

Ao Professor Ph.D. C.C.Allison, da Universidade de Ohio, pelo fornecimento do meio para cultivo do fungo.

Ao Sanjiro Shirabayashi, Estudante da Econo-



Estampa 1. Aspectos culturais de diversos isolamentos de Stemphylium solani, em meios de B.D.A. e V-8.



Estampa 2 - Comparações de aspectos culturais de alguns isolamentos de Stemphylium solani, entre o meio B.D.A.- e V-8.