

Sensibilidade de *Stemphylium solani* a extratos vegetais e caldas e controlo da doença no tomateiro em estufa

Sensitivity of *Stemphylium solani* to plant extracts and syrups and disease control in tomato at greenhouse

Daucilêia Paula Domingues¹, Carlos Antonio dos Santos¹, Lígia Sayko Kowata-Dresch¹, Carolina de Araújo Reis¹, Maria do Carmo de Araújo Fernandes² e Margarida Goréte Ferreira do Carmo^{1*}

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Agronomia (IA), Departamento de Fitotecnia, Rodovia BR-465, Km 07, Seropédica, RJ, 23897-000, Brasil;

² Empresa de Pesquisa Agropecuária do estado do Rio de Janeiro – PESAGRO-RIO, Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica – CEPAO, Rodovia BR-465, Km 07, Seropédica, RJ, 23897-000, Brasil.

(*E-mail: gorette@ufrrj.br)

<http://dx.doi.org/10.19084/RCA15129>

Recebido/received: 2015.09.25

Recebido em versão revista/received in revised form: 2016.05.18

Aceite/accepted: 2016.08.08

RESUMO

Desenvolveu-se este trabalho com o objectivo de avaliar o efeito de extratos de canela (12%), alho (8%), pimenta (16%), tabaco (6%), e das caldas viçosa, bordalesa, sulfocálcica e sulfocálcica em emulsão (todas a 1%) em cinco isolados de *Stemphylium solani* e a eficácia dos mesmos em controlar a doença no tomateiro em estufa. Nos testes *in vitro*, utilizaram-se clorotalonil (1800 mg.L⁻¹) e água como testemunhas e avaliaram-se o efeito dos tratamentos no crescimento micelial, germinação e produção de conídios. Em estufa, avaliou-se o efeito dos tratamentos na área abaixo da curva da progressão da doença (AACPD) e na produção de frutos, alterando o fungicida utilizado como testemunha para mancozebe (3 g.L⁻¹). Observou-se grande variabilidade entre os isolados quanto à sensibilidade aos tratamentos. Estes não afetaram a esporulação, excepto a calda sulfocálcica em emulsão que a estimulou em todos os isolados. As caldas bordalesa e viçosa inibiram completamente o crescimento micelial e reduziram significativamente a germinação dos conídios na maioria dos isolados. Os extratos vegetais e as caldas causaram redução da AACPD comparado à testemunha água, especialmente a calda bordalesa, mas não afetaram a produção de frutos.

Palavras-chave: Calda bordalesa, calda viçosa, extrato de alho, testes *in vitro*, *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of extracts of cinnamon (12%), garlic (8%), pepper (16%) and tobacco (6%) and viçosa mixture, bordeaux mixture, lime sulfur and sulfur emulsion (all 1%) on five isolates of *Stemphylium solani* and their efficiency in disease control of tomato in greenhouse. In tests *in vitro*, chlorothalonil (1800 mg.L⁻¹) and water were used as controls and the mycelial growth, germination and the production of conidia were evaluated. At greenhouse, the treatments effect on the area under the disease progress curve (AUDPC) and production of fruits was evaluated, altering the fungicide control to mancozebe (3 g.L⁻¹). There was high variability among isolates concerning sensitivity to treatments. Treatments did not affect spore production, except lime sulfur emulsion, which stimulated it in all isolates. Viçosa and bordeaux mixtures inhibited completely the mycelial growth and reduced significantly the conidial germination in most isolates. The extracts and mixtures decreased the AUDPC compared to water control, mainly bordeaux mixture. The treatments did not affect the fruits production.

Keywords: bordeaux mixture, viçosa mixture, garlic extract, *in vitro*, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é atacado por inúmeras doenças. Entre estas, está a estenfiliose (= mancha-de-estenfilio) que pode causar redução da área fotossintética e, conseqüentemente, da produção. Os sintomas da doença ocorrem principalmente nas folhas com a formação de pintas pequenas, encharcadas, de cor marrom a preta. Rapidamente evoluem para lesões necróticas de cor cinza escura e contornos circulares ou irregulares, ligeiramente deprimidas e circundadas por halo clorótico (Kurozawa & Pavan, 2005).

A estenfiliose do tomateiro pode ser causada por quatro espécies de *Stemphylium*: *S. solani* Weber, *S. lycopersici* (Enjoji) W. Yamamoto (syn. *S. floridanum* Hannon e G. F. Weber), *S. botryosum* Wallr. e *S. vesicarium* (Wallr) Simmons. Destas, apenas as duas primeiras ocorrem no Brasil (Reis e Boiteux, 2006), com predomínio de *S. solani*, provavelmente, pela sua maior gama de hospedeiros e melhor adaptação a altas temperaturas (Santos, 1995). Apesar de relatada como doença de importância secundária, epidemias severas e redução da produção têm sido reportadas nos últimos anos nas regiões produtoras de tomate no Brasil (Reis e Boiteux, 2006; Domingues, 2012).

Para o controle da doença é preconizado o uso de cultivares resistentes e pulverizações com fungicidas (Lopes *et al.*, 2005). No entanto, muitas das cultivares disponíveis no mercado não possuem o gene *Sm* que confere resistência a este agente patogénico (Reis e Boiteux, 2006). Tal fator dificulta o controle da doença, especialmente em lavouras conduzidas sob sistema de produção biológico, também conhecido como orgânico, face à proibição do uso de agrotóxicos. Diante destas limitações, listam-se os extratos de plantas bioativas e algumas caldas à base de cobre e biofertilizantes como opções permitidas na legislação (Brasil 2007; Brasil, 2011).

O uso de extratos vegetais no controle de doenças de plantas ainda é muito incipiente, apesar dos inúmeros relatos de ação fungitóxica *in vitro* de extratos de diferentes espécies vegetais contra fungos fitopatogénicos como: de extratos de alho (*Allium sativum*) e de canela (*Cinnamomum*

zeylanicum) sobre *Aspergillus flavus* (Viegas *et al.*, 2005) e *Alternaria solani* (Domingues *et al.*, 2009; Pedroso *et al.*, 2009); e de extratos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) e alho sobre *Colletotricum acutatum* (Almeida *et al.*, 2009). Entre as opções de caldas mais utilizadas estão a bordalesa, viçosa e sulfocálcica. A calda bordalesa (sulfato de cobre e cal virgem) (Reis *et al.*, 2007) tem ação fungicida, bactericida e bacteriostática e é amplamente empregada em culturas como batata, tomate e pimentão (Schwengber *et al.*, 2007). A calda viçosa (sulfato de cobre, sulfato de zinco, sulfato de magnésio, ácido bórico, cloreto de potássio e cal hidratada) também é preconizada para o controle de doenças em várias culturas entre as quais o tomateiro (Zambolim *et al.*, 1990). A calda sulfocálcica, cujo princípio ativo é o polissulfeto de cálcio, é um produto sulfurado, inorgânico com ação fungicida, acaricida e inseticida (Reis *et al.*, 2007).

Na agricultura biológica, as estratégias de controle das doenças devem ser, prioritariamente, baseadas em práticas que contribuam para a redução do inóculo inicial, para tornar o ambiente menos propício às infecções pelos agentes patogénicos, aumentar a resistência das plantas às infecções e, principalmente, no uso de cultivares geneticamente resistentes. A disponibilidade de produtos de ação protetora ou curativa torna-se mais importante à medida que as práticas anteriores não são observadas ou, não são suficientes para reduzir as infecções e as perdas causadas pela doença. Assim, tendo em vista o facto de muitas das cultivares de tomate serem suscetíveis à estenfiliose, a identificação e validação de produtos de ação fungicida que atendam à legislação para agricultura biológica é necessária. O conhecimento do efeito destes produtos sobre o agente patogénico e no controle da doença é importante para nortear suas prescrições (Reis *et al.*, 2007).

O presente trabalho teve como objectivo investigar dois aspectos importantes para o desenvolvimento de alternativas para o controle da estenfiliose do tomateiro em sistema biológico de produção: o efeito de extratos vegetais e caldas na germinação, crescimento micelial e esporulação de diferentes isolados de *S. solani* e a eficácia desses produtos no controle da doença em condições de estufa.

MATERIAL E MÉTODOS

Sensibilidade in vitro de isolados de Stemphylium solani a extratos vegetais e caldas

Utilizaram-se cinco isolados de *S. solani*, SENA 301 e SENA 302, obtidos em lavoura comercial de tomate, cultivar 'Forty', no município de Paty do Alferes, RJ (Brasil) e SENA 101, SENA 102 e SENA 202, obtidos de plantas do acesso ENAS 1136 e das cultivares 'Carolina' e 'Garrafinha Rosa', respectivamente, cultivadas em sistema biológico no município de Seropédica, RJ. Estes isolados pertencem à coleção do Laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes (LabEPS) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Os isolados foram cultivados em meio V8 CaCO₃ ágar (200 mL suco V8, 17 g Agar, 800 mL de água destilada e 3 g de CaCO₃ – (Diener, 1952) e incubados em estufa B.O.D (25+2 °C e 12 h de fotoperíodo).

Foram testados oito tratamentos: quatro extratos vegetais (alho, pimenta, canela e tabaco), quatro caldas químicas (bordalesa, viçosa, sulfocálcica e sulfocálcica em emulsão – EM) cedidos pelo CEPAO (Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica) da PESAGRO-RIO (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro), além de duas testemunhas (água e clorotalonil a 1800 mg.L⁻¹).

Para obtenção dos extratos, utilizaram-se bulbos de alho (*A.sativum*), frutos maduros de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e casca de canela (*C. zeylanicum*) secos em estufa com ventilação forçada (40°C); e folhas prensadas de tabaco (*N. tabacum*). As amostras foram moídas e submetidas à extração alcoólica, com a utilização de álcool etílico a 70%, por 24 horas, em temperatura ambiente e na ausência de luz. O sobrenadante foi recolhido e o extrato concentrado em rotavapor. Ao extrato concentrado adicionou-se caulino na proporção de 1:2, respectivamente.

Utilizou-se calda bordalesa a 1% (25 mL de solução contendo 5 g de sulfato de cobre (CuSO₄) + 25 mL de suspensão contendo 3,5 g de cal virgem (CaO), calda viçosa a 1% (50 mL da calda bordalesa adicionada de 4,0 g de sulfato de magnésio (MgSO₄), 0,75 g de ácido bórico (H₃BO₃) e 0,75 g sulfato de zinco (ZnSO₄) (Cruz Filho e Chaves, 1989) e calda sulfocálcica a 1% (6,25g de enxofre (S) e 3,125g de cal virgem

(CaO) em 50 mL de água). Preparou-se a calda sulfocálcica em panela de ferro sobre forno a iniciar-se pela adição da cal virgem a 25 mL de água quente com agitação constante. No início da fervura, misturou-se o enxofre previamente dissolvido em 25 mL de água quente. A calda ficou pronta quando a cor desta solução passou de vermelha para pardo avermelhada e densidade entre 25 e 28° Be (graus Baumé). A calda sulfocálcica em emulsão foi preparada pela mistura de 20 mL de óleo vegetal de milho e 11,11 mL de detergente líquido neutro, seguido de agitação e acréscimo de 20 mL de calda sulfocálcica. As concentrações foram definidas com base na recomendação feita aos produtores pela PESAGRO-RIO (Fernandes *et al.*, 2008).

Inicialmente, avaliou-se o efeito dos tratamentos sobre a germinação de conídios. Depositaram-se alíquotas de 10µL de suspensão de cada isolado (2x10⁴ conídios.mL⁻¹) em lâminas de vidro, acrescentando-se em seguida 10 µL dos extratos, caldas e testemunhas correspondentes aos tratamentos. As lâminas foram acomodadas em caixas Gerbox contendo papel de filtro umedecido com 20 mL de água e mantidas em B.O.D. por 24 horas a 25°C sob escuro contínuo. Foram avaliados 100 conídios por parcela, consideraram-se como germinados aqueles com tubos germinativos de tamanho igual ou superior ao maior comprimento do conídio.

O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco repetições, em esquema bifatorial 5x10, composto por cinco isolados e 10 tratamentos. Cada repetição era composta por uma lâmina de vidro.

A avaliação do crescimento micelial e da esporulação foi realizada em placas de Petri contendo meio V8CaCO₃ ágar (Diener, 1952). Adicionaram-se os extratos e as caldas ao meio fundente na proporção desejada, seguido de agitação e distribuição nas placas. Para aos extratos de alho, canela, pimenta e tabaco, adicionaram-se 0,8 g a 100 mL de meio visando obter a concentração de 0,8%. Para as caldas sulfocálcica e sulfocálcica em emulsão, adicionaram-se 200 e 400 µL para cada 100 mL de meio, para obter as concentrações de 0,5 e 1%, respectivamente. Para as caldas bordalesa e viçosa, adicionaram-se 10 mL a cada 90 mL de meio, obtendo a concentração de 1%.

Em seguida, discos de micélio (5,0 mm Ø), retirados dos bordos de colônias dos cinco isolados foram transferidos para o centro das placas de Petri contendo os respectivos tratamentos. As placas foram acondicionadas em B.O.D. a 25°C e fotoperíodo de 12 h por 11 dias, seguido de 9 dias a 15 °C para indução da esporulação.

O crescimento micelial foi avaliado diariamente até o 11º dia da montagem do ensaio, medindo-se os diâmetros (mm) das colônias em dois sentidos perpendiculares, sendo o valor de crescimento a média das duas medidas. Os dados foram integrados no tempo para calcular a área abaixo da curva do crescimento (AACC) (Shaner e Finney (1977) conforme mostrado na equação 1.

$$AACC = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(Y_{i+n1} + Y_i)}{2} \right] [x_{i+1} + X_i]$$

Equação 1: Área baixo da curva do crescimento. Onde, Y_i = diâmetro da colônia naquela avaliação, X_i = tempo (dias) na avaliação i th e n = número total de avaliações.

Vinte dias após repicagem, determinou-se o diâmetro final das colônias e a produção de conídios. Para tanto, adicionou-se 5,0 mL de água destilada esterilizada em cada placa, seguida de leve raspagem do micélio com pincel de cerdas macias para remoção dos conídios. Determinou-se o número de conídios em três amostras por placa por meio de contagem em hemacitômetro e, em seguida, calculou-se o número de conídios por mm² de colônia e por placa.

O delineamento foi inteiramente ao acaso com cinco repetições em esquema bifatorial 5 (isolados) x10 (tratamentos). Cada repetição era composta por uma placa de Petri.

Efeito de extratos vegetais e caldas no desenvolvimento da estenfiliose, em condições de estufa

O ensaio foi realizado de outubro a dezembro de 2014, em estufa climatizada, com temperaturas variando de 15 a 37°C. Utilizaram-se plantas do híbrido Serato, suscetível à doença (Domingues, 2012). As plântulas foram produzidas por sementeira em bandejas de polipropileno preenchidas com substrato comercial. Após 30 dias, quando

apresentavam dois pares de folhas definitivas, efetuou-se a transplantação para vasos plásticos de 8 L que continham mistura de solo e estrume de coelho, na proporção de 3:1. Cada vaso continha duas plantas conduzidas verticalmente. A inoculação foi realizada aos dois dias após transplantação (DAT) com suspensão contendo 10⁴ conídios. mL⁻¹ de *S. solani*, pulverizada até ponto de escorrimento. Regaram-se as plantas, manualmente, sem molhar as folhas. Aplicaram-se os demais tratamentos culturais tradicionais da cultura como retirada dos rebentões semanalmente, poda da haste principal e fertilização com 0,5 L de estrume bovino por vaso aos 37 DAT, quando as plantas continham dois cachos florais.

Os tratamentos testados foram: caldas bordalesa 1%, viçosa 1%, sulfocálcica 1% e sulfocálcica EM 1%; extratos de alho 8%, canela 12%, tabaco 6% e de pimenta 16%, e duas testemunhas: mancozebe a 0,22% de princípio ativo (formulação 750g.kg⁻¹ e dosagem 3.L⁻¹) e água. O preparo dos extratos e das caldas foi realizado conforme descrito anteriormente. Realizaram-se as pulverizações nas folhas até o ponto de escorrimento aos 3, 10, 17, 24, 31, 38, 45 e 52 DAT, a totalizar oito aplicações.

A quantificação da severidade da estenfiliose iniciou-se a partir do surgimento dos primeiros sintomas aos dez dias após a transplantação, seguido de mais oito avaliações aos 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59 e 63 DAT. Nestas, estimou-se a percentagem de área foliar infectada nos três folíolos terminais de todas as folhas de cada planta (n = 80 plantas), utilizando a escala diagramática de Boff *et al.* (1991). Os dados de severidade por parcela foram integrados no tempo para se calcular a área abaixo da curva da progressão da doença (AACPD) (Shaner e Finney, 1977). A produção foi avaliada em uma única colheita, aos 63 DAT, onde determinou-se a massa fresca (g) e número de frutos por planta (total e comercial). Consideraram-se como comerciais os frutos íntegros e, como não comerciais, todos aqueles com sintomas ou sinais de doenças, ataques de pragas ou anomalias fisiológicas.

Adotou-se o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída de um vaso contendo duas plantas, a totalizar 80 plantas.

Os dados obtidos nos ensaios *in vitro* e *in vivo* foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao

teste de Tukey ($p < 0,05$), para comparação das médias com auxílio do programa estatístico SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sensibilidade in vitro de isolados de Stemphylium solani a extratos vegetais e caldas

Observou-se efeito significativo de tratamento, de isolado e da interação entre estes sobre a germinação dos conídios, o crescimento micelial e a produção de conídios.

A germinação dos conídios dos cinco isolados variou de forma significativa quando expostos aos tratamentos testados. Esses, de forma geral, apresentaram maior percentagem de germinação no tratamento testemunha-água (65 a 82% de germinação), excepto o isolado SENA 102 que se caracterizou por comportamento atípico comparado aos demais isolados e, baixa percentagem de germinação neste tratamento (11,6%). Tendo em consideração a média dos cinco isolados, observou-se maior percentagem de germinação na testemunha água e na calda sulfocálcica em emulsão (EM). Ainda, a calda sulfocálcica não afetou a germinação dos conídios. A menor percentagem de germinação de conídios foi observada nos tratamentos com calda bordalesa, calda viçosa e clorotalonil (Quadro 1). Os extratos de alho, tabaco, canela e pimenta, comparado à testemunha, também reduziram a germinação dos conídios, porém, em menor intensidade que os três tratamentos anteriormente mencionados (Quadro 1). Os conídios dos isolados SENA 310, SENA 202, SENA 302 e SENA 101 tiveram significativa redução da germinação quando expostos às caldas viçosa e bordalesa e ao clorotalonil e, apenas pequena redução quando expostos às caldas sulfocálcica ou sulfocálcica EM. O extrato de alho promoveu resposta variável conforme o isolado, tendo reduzido a germinação dos conídios dos isolados SENA 101 e SENA 202 e não afetado a dos isolados SENA 302 e SENA 310. Esta diferença pode estar associada à origem geográfica dos isolados ou aos sistemas de cultivo adotados nas lavouras das quais foram obtidos. Os isolados SENA 302 e SENA 310 foram obtidos de culturas na região de Paty do Alferes, caracterizadas pelo uso contínuo de fungicidas como tebuconazole, mancozebe, clorotalonil, oxicloreto

de cobre e difenoconazole. Os demais isolados são provenientes de áreas onde era adotado sistema de cultivo biológico. Os extratos de tabaco e pimenta reduziram a germinação dos conídios de quatro isolados (SENA 310, SENA 202, SENA 302 e SENA 101) e o extrato de canela de outros quatro isolados (SENA 202, SENA 302, SENA 101 e SENA 102). O isolado SENA 102, caracterizado pela baixa germinação dos conídios, respondeu de forma diferente comparado aos quatro demais – seus conídios foram estimulados a germinar quando expostos às caldas sulfocálcica e sulfocálcica EM e aos extratos de tabaco, pimenta e canela. Por outro lado, as caldas bordalesa e viçosa e o clorotalonil não afetaram a germinação dos conídios desse isolado (Quadro 1).

As caldas bordalesa e viçosa inibiram totalmente o crescimento micelial dos cinco isolados testados, enquanto o clorotalonil e a calda sulfocálcica e sulfocálcica EM reduziram, significativamente, o crescimento do micélio da maioria dos isolados. Os extratos de pimenta, tabaco e alho proporcionaram efeito variável conforme o isolado. Os extratos de pimenta e tabaco, de forma geral, estimularam o crescimento do micélio quando comparados à testemunha. O extrato de canela não afetou o crescimento do micélio de nenhum dos isolados (Quadro 1). De modo geral, os isolados SENA 302 e SENA 102 destacaram-se como os de maior crescimento micelial e os isolados SENA 202 e SENA 101 os de menor crescimento, obtendo-se respostas variáveis de crescimento conforme os tratamentos.

Quanto ao efeito dos tratamentos na produção de conídios, observou-se estímulo com a adição de calda sulfocálcica EM ao meio V8 e nenhum efeito dos demais tratamentos comparado à testemunha. De forma geral, a produção de conídios foi baixa, excepto no isolado SENA 310 cultivado em meio V8 + calda sulfocálcica EM. Não foi avaliado o efeito dos tratamentos caldas viçosa e bordalesa sobre a produção de conídios, pois não houve crescimento de nenhum dos cinco isolados nesses tratamentos (Quadro 1).

Entre os produtos testados, maior constância nas respostas foi observada para as caldas viçosa e bordalesa que inibiram completamente o crescimento micelial e reduziram a germinação dos conídios de todos os cinco isolados de *S. solani* testados

em 80 a 90%. O desempenho das caldas bordalesa e viçosa, *in vitro*, de um modo geral, foi igual ou superior ao do fungicida clorotalonil. Outra informação relevante é o facto destas caldas terem ação apenas protetora e não curativa (Schwengber *et al.*, 2007).

Quanto aos extratos de alho, tabaco, canela e pimenta, pode-se afirmar com base nos ensaios *in vitro* que estes não são boas opções para o controlo da estenfiliose. Os resultados do presente trabalho contrariam relatos de ação fungitóxica de extratos de alho feita por outros autores. Pedroso *et al.* (2009) e Domingues *et al.* (2009) relatam inibição do crescimento micelial de *A. solani* com extrato de bulbos de alho a partir da concentração de 10% e

1%, respectivamente. Sallam (2011) verificou que extratos de folhas de alho nas concentrações de 1% e 5% inibiram o crescimento micelial de *A. solani* em 32% e 42%, respectivamente. Domingues *et al.*, (2009) relatam 100% de inibição da germinação de conídios de *A. solani* com extrato hexânico de bulbilho de alho, a partir de concentração de 0,1%. Estes resultados, porém, podem estar associados tanto às diferenças de sensibilidade dos isolados/ espécies como à forma de obtenção e manuseio dos extratos. Existem também relatos de ausência de efeito de extratos destas plantas contra vários outros agentes patogénicos, concordando com parte dos resultados do presente estudo. Carvalho *et al.* (2002), por exemplo, não observaram efeito do extrato de bulbos de alho no crescimento micelial

Quadro 1 - Efeito da interação entre tratamentos (extratos vegetais, caldas e fungicida) e isolados de *Stemphylium solani* expresso pela percentagem de germinação, crescimento micelial e esporulação, *in vitro*

Tratamentos	Germinação de conídios %					
	SENA 310	SENA 202	SENA 302	SENA 101	SENA 102	Média
Testemunha	82,2 A a	72,8 B a	65,4 C a	67,4 BC a	11,6 D c	59,8 a
Sulfocálcica Em ¹	60,6 A b	62,4 A ab	43,2 A cd	62,4 A a	49,8 A a	55,6 a
Sulfocálcica	64,4 A b	63,6 A ab	42,2 C cd	44,8 BC b	55,8 AB a	54,1 ab
Alho	69,2 A ab	36,2 CD c	60,8 AB ab	29,0 D cd	48,6 BC a	48,7 bc
Tabaco	40,4 A c	52,4 A b	50,0 A bc	39,6 A bc	49,8 A a	46,3 cd
Canela	67,4 A ab	30,6 B c	40,4 B cd	31,0 B bcd	32,4 B b	40,3 de
Pimenta	39,6 A c	34,0 AB c	33,6 AB d	20,8 B de	50,2 A a	35,6 e
Bordalesa	9,0 AB d	14,2 A d	10,0 AB e	14,6 A ef	8,0 B c	11,1 f
Viçosa	9,4 AB d	12,4 A d	8,4 ABC e	7,8 BC ef	4,6 C c	8,5 f
Clorotalonil	11,0 A d	7,2 B d	8,2 AB e	2,8 C f	9,0 AB c	7,6 f
Média	45,2 A	38,5 B	36,2 B	32,0 C	31,9 C	
Crescimento Micelial (AACC)						
Pimenta	540,8A a	498,6 C ab	507,0 BC a	520,2 B a	494,6 C a	512,2 a
Tabaco	534,3A a	489,9 B ab	498,1 B ab	501,7 B ab	497,5 B a	504,0 ab
Alho	509,9AB b	505,8 AB a	481,3 B c	483,0AB b	525,9 A a	501,2 ab
Canela	507,6 A b	497,0 A ab	487,1 A bc	489,1 A b	511,3 A a	498,4 bc
Testemunha	490,9BC b	475,4 CD b	510,1 A a	456,6 D c	502,9AB a	487,2 c
Sulfocálcica Em ¹	233,7B c	223,5 B c	236,4 B d	276,8 A d	238,3 B b	241,7 d
Sulfocálcica	106,4 C e	124,4 B d	186,1 A e	115,4 BC e	105,3 C c	127,5 e
Clorotalonil	137,7 A d	126,8 AB d	126,3 AB f	107,0 C e	117,6 BC c	123,1 e
Viçosa	0,0 A f	0,0 A e	0,0 A g	0,0 A f	0,0 A d	0,0 f
Bordalesa	0,0 A f	0,0 A e	0,0 A g	0,0 A f	0,0 A d	0,0 f
Média	306,1 A	294,1 B	303,1 A	295,0 B	299,3 AB	
Número de conídios mm ⁻²						
Sulfocálcica Em ¹	11,95 A a	1,65 B a	2,10 B a	5,22 AB a	1,78 B a	4,53 a
Testemunha	0,09 B b	1,62 A a	0,21 B b	0,07 B b	0,33 B b	0,46 b
Canela	0,61 A b	0,33 A b	0,25 A b	0,33 A b	0,28 A b	0,35 b
Sulfocálcica	0,18 BC b	0,33 A b	0,18 BC b	0,06 C b	0,27 AB b	0,20 b
Tabaco	0,46 A b	0,04 A b	0,27 A b	0,06 A b	0,08 A b	0,18 b
Pimenta	0,20 A b	0,16 A b	0,17 A b	0,16 A b	0,17 A b	0,17 b
Alho	0,09 AB b	0,49 A b	0,09 AB b	0,04 B b	0,23 AB b	0,19b
Clorotalonil	0,29 B b	0,79 A b	0,13 B b	0,09 B b	0,26 B b	0,31 b
Média	1,73 A	0,67 B	0,42 B	0,75 AB	0,42 B	

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ¹Calda sulfocálcica em emulsão.

de *Curvularia eragrostides* e na germinação dos conídios de *Colletotrichum acutatum*, respectivamente.

Efeito de extratos vegetais e caldas no desenvolvimento da estenfiliose, em condições de estufa

Foram observados os primeiros sintomas da estenfiliose aos 10 DAT, com maiores incrementos de severidade a partir do 24º dia, especialmente no tratamento testemunha. Verificou-se, no geral, baixa severidade da doença (até 8% de área foliar lesionada), o que pode estar relacionado com as condições climáticas predominantes – temperaturas altas, chegando a alcançar 37°C, baixa humidade relativa e ausência de molhamento foliar. Para o estabelecimento e desenvolvimento da estenfiliose em plantas suscetíveis de tomateiro a condição ideal é dada por temperaturas diurnas próximas de 25°C e noturnas mais amenas, em torno de 15°C (Kowata-Dresch, 2014).

Ao se analisar a AACPD, observa-se que todos os tratamentos reduziram significativamente o desenvolvimento da estenfiliose em relação à testemunha (Quadro 2). Os menores valores de AACPD foram observados no tratamento com a calda bordalesa. No entanto, esta redução não foi suficiente para afetar significativamente a produção total e comercial (massa e número de frutos) (Quadro 2).

Registrou-se baixa produtividade por planta, não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos testados. Deve-se considerar, porém, que só foi feita uma colheita aos 63 DAT, quando o habitual é a realização de várias colheitas com o ciclo de produção se estendendo até os 120 DAT, aproximadamente. A baixa produção também pode estar relacionada às elevadas temperaturas registradas durante o ensaio. Temperaturas acima de 32°C induzem o aborto floral e inibem o desenvolvimento dos frutos (Fontes, 2005).

Deve-se considerar, ainda, que este ensaio foi realizado em condições de estufa em ciclo curto, 63 dias, e com condições menos propícias a ocorrência de infecções pela ausência de molhamento foliar. Ainda, como as plantas receberam irrigação localizada e não estavam expostas à chuva, não houve lavagem dos produtos pela água. A persistência dos produtos e a duração do seu efeito protetor não foram avaliadas.

As caldas sulfocálcica e sulfocálcica em emulsão são mais usadas para o controlo de pragas como ácaros e cochonilhas, apesar de também preconizadas para controlo de algumas doenças na produção biológica (Fernandes *et al.*, 2008). Estas duas caldas reduziram o crescimento micelial dos cinco isolados, porém, este efeito foi menor que o

Quadro 2 - Área abaixo da curva da progressão da mancha-de-estenfilio (AACPD), causada por *Stemphylium solani*, e produção de plantas de tomateiro, cultivar Serato, submetidas a pulverizações semanais com quatro extratos vegetais, quatro caldas e duas testemunhas, água e mancozebe, em estufa

Tratamentos	AACPD	Massa de frutos (g.planta ⁻¹)		Número de frutos.planta ⁻¹	
		Total	Comercial	Total	Comercial
Testemunha	63,41 a	538,7 a	502,5 a	5,7 a	5,2 a
Pimenta	36,69 b	661,2 a	491,2 a	7,2 a	5,0 a
Sulfocálcica	34,41 bc	491,2 a	397,5 a	6,2 a	5,0 a
Tabaco	33,98 bc	612,5 a	612,5 a	7,0 a	7,0 a
Sulfocálcica Em ¹	32,75 bc	570,0 a	389,0 a	6,7 a	6,2 a
Canela	30,15 bc	533,7 a	533,7 a	6,2 a	6,2 a
Alho	29,18 bc	563,7 a	508,7 a	6,7 a	6,0 a
Viçosa	21,89 bc	627,5 a	627,5 a	7,2 a	7,2 a
Mancozebe	16,53 bc	565,0 a	398,7 a	7,2 a	5,0 a
Bordalesa	13,96 c	676,2 a	581,2 a	6,7 a	5,7 a
CV%	28,27	23,53	31,89	23,89	27,93

*Para cada item, médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). ¹Calda sulfocálcica em emulsão.

promovido pelo fungicida clorotalonil. Ainda, em média, as mesmas não foram eficazes em reduzir a germinação dos conídios na maioria dos isolados, tendo inclusive estimulado a sua germinação. Com base nestes resultados, apesar da eficiência intermediária destas duas caldas no controlo da doença em estufa, pode-se afirmar que as mesmas não devem ser recomendadas para o controlo da estenfiliose.

A grande maioria dos trabalhos com extratos de plantas relatam resultados obtidos em ensaios *in vitro*, sendo escassos aqueles realizados em condições de estufa ou campo. Diniz *et al.* (2006) relatam eficiência intermediária dos extratos de pimenta, pimenta-do-reino, cravo, açafrão-da-índia e alho quando comparadas ao fungicida metalaxyl e à testemunha no controlo da requeima do tomateiro (*Phytophthora infestans*), em condições de campo, concordando com os resultados obtidos neste ensaio.

Os ensaios *in vitro* servem para uma avaliação prévia do efeito de caldas e extratos sobre os agentes patogénicos. Entretanto, a eficácia destes no controlo das doenças causadas pelos respectivos agentes somente pode ser aferida em testes em condições de campo ou de estufa. Nestas condições, são inseridos outros componentes do sistema como a interação planta x patogénio e o efeito do ambiente que podem afetar a resposta do patogénio, a reação da hospedeira e a própria ação do produto. Os extratos vegetais, por exemplo, produzem compostos voláteis que podem estimular ou inibir a germinação ou o crescimento de microorganismos, ou desencadear alterações no desenvolvimento das plantas (French, 1992).

No ensaio em estufa, observou-se redução da AACPD pelos tratamentos com extratos, comparado à testemunha, apesar de alguns destes não terem inibido satisfatoriamente a maioria dos isolados nos testes *in vitro*. Estas variações entre os resultados obtidos *in vitro* e em estufa corroboram relatos de diferentes autores.

A aplicação de caldas e de extratos de plantas é uma das poucas estratégias curativas permitidas pela legislação para a agricultura biológica. No entanto, como muitas vezes tem o seu preparo caseiro, ou sem a observação de protocolos na preparação, podem existir variações em sua composição em função do lote, da procedência e armazenamento. Estas variações podem implicar em inconstâncias nos resultados no campo. Aliado a esta informação, a alicina, por exemplo, presente no extrato de alho, substância tóxica que inativa os microorganismos, tem a sua ação antimicrobiana *in vivo* questionada, em decorrência da sua alta instabilidade (Amagase *et al.*, 2001). Outra possível explicação para variações entre resultados de testes *in vitro* e *in vivo* e entre resultados de diferentes autores é a diferença quanto à sensibilidade de distintos isolados, conforme mostrado no presente trabalho.

Pode-se concluir que as caldas viçosa e bordalesa apresentam alta fungitoxidade a *S. solani* com inibição completa do crescimento micelial de diferentes isolados *in vitro*. Os extratos de alho, tabaco, pimenta e canela e a calda sulfocálcica não afetam a esporulação de *S. solani*. A calda sulfocálcica em emulsão pode estimular a esporulação de *S. solani*. Existe grande variabilidade entre diferentes isolados de *S. solani* quanto à sensibilidade a extratos de alho, tabaco, pimenta e canela e as caldas bordalesa, viçosa e sulfocálcica. Todos os extratos e caldas testados proporcionaram redução da doença em estufa. Melhor controlo da doença foi obtido com a calda bordalesa.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio na forma de bolsas e auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, T.F.; Camargo, M. e Panizzi, R.C. (2009) – Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. *Summa Phytopathologica*, vol. 35, n. 3, p.196-201. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052009000300006>
- Amagase, H.; Petesch, B.L.; Matsuura, H.; Kasuga, S. e Itakura, Y. (2001) – Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of Nutrition*, vol. 131, n. 3, p. 955S-962S.
- Boff, P.; Zambolim, L. e Ribeiro do Vale, F.X. (1991) – Escalas para avaliação de severidade da mancha-de-estenfílo (*Stemphylium solani*) e da pinta-preta (*Alternaria solani*) em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 16, p. 280-283.
- Brasil. (2007) – Decreto nº 6323, de 27 de Dezembro de 2007. *Diário Oficial da União* [em linha], Brasília. [cit. 2015-06-14]. http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/Decreto/D6323.htm.
- Brasil. (2011) – Instrução Normativa n. 46 de 06 de Outubro de 2011. *Diário Oficial da União* [em linha], Brasília. [cit. 2015-06-14]. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Organicos/Legislacao/Nacional/Instrucao_Normativa_n_0_046_de_06-10-2011.pdf.
- Carvalho, R.A.; Lacerda, J.T.; Oliveira, E.F e Santos, E.S. (2002) – Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste. In: *Simpósio Nacional Sobre as Culturas do Inhame e do Taro*, João Pessoa, Brasil, EMEPA. 99-112 p.
- Cruz Filho, J. e Chaves, G. M. (1989) – Calda Viçosa no controle da ferrugem do cafeeiro. *Informe técnico* 51. Viçosa, UFV, 22p.
- Diener, U.L. (1952) – A method for inducing abundant sporulation of *Stemphylium solani* in pure culture. *Phytopathology*, vol. 42, n. 7.
- Diniz, L. P.; Maffia, L.A.; Dhingra, O.D.; Casali, V.W.D.; Santos, R. H. S.e Mizubuti, E. S.G. (2006) – Avaliação de produtos alternativos para controle da queima do tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 31, n. 2, p. 171-179. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000200008>
- Domingues, D.P. (2012) – *Etiologia e controle da mancha-de-estenfílo do tomateiro (Solanum lycopersicum) no estado do Rio de Janeiro*. Dissertação de mestrado, Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 98 p.
- Domingues, R.J.; Souza, J.D.F.; Tofoli, J.G. e Matheus, D.R. (2009) – Ação *in vitro* de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. *Arquivos do Instituto Biológico*, vol. 76, n. 4, p. 643-649.
- Fernandes, M.C.A.; Leite, E.C.B. e Moreira, V.E. (2008) – Defensivos Alternativos. *Manual Técnico* 1. Niterói, Programa Rio Rural, 17 p.
- Fontes, P.C.R. (2005) – *Olericultura: teoria e prática*. Viçosa, Imprensa Universitária, 486 p.
- French, R.C. (1992) – Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores. *Mycologia*, vol. 84, n. 3, p. 277-288.
- Kowata-Dresch, L.S. (2014) – *Estudos epidemiológicos e respostas fisiológicas à infecção da mancha-de-estenfílo em genótipos de tomateiro*. Tese de Doutorado, Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 201 p.
- Kurozawa, C. e Pavan, M. (2005) – Doenças do tomateiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M. Bergamin Filho, A. e Camargo, L.E.A. (Eds.) – *Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*, v.2, São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, p. 607-626.
- Lopes, C.A.; Reis, A. e Boiteux, L.S. (2005) – Doenças fúngicas. In: Lopes, C.A. e Ávila, A.C. (Eds.) – *Doenças do tomateiro*, Brasília, Embrapa Hortaliças, p. 19-51.
- Pedroso, D.C.; Menezes, V.; Girardi, L.B. e Muniz, M.F.B. (2009) – Crescimento micelial de *Alternaria solani* na presença de extratos vegetais. *Cadernos de Agroecologia*, vol. 4, n. 1, p. 4256-4259.
- Reis, A. e Boiteux, L. S. (2006) – Mancha-de-estenfílo: ressurgimento de um antigo problema do tomateiro. *Circular Técnica* 41, Brasília, Embrapa Hortaliças, 8 p.
- Reis, E.M.; Reis, A.C. e Forcelini, C.A. (2007) – *Manual de fungicidas: Guia para o controle químico de doenças de plantas*. 5.ª ed. Passo Fundo, Editora UPF, 153p.
- Sallam, N.M.A. (2011) -Control of tomato early blight disease by certain aqueous plant extracts. *Plant Pathology Journal*, vol. 10, p. 187-191. <http://dx.doi.org/10.3923/ppj.2011.187.191>
- Santos, J. R. M. (1995) – Levantamento de espécies de *Stemphylium* em tomateiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 20, p. 354 (suplemento).

- Schwengber, J.E.; Schiedeck, G. e Gonçalves, M.M. (2007) – *Preparo e utilização de caldas nutricionais e protetoras de plantas*. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 62 p.
- Shaner, G. e Finney, R. E. (1977) – The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology*, vol. 67, p. 1051-1056. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-67-1051>
- Viegas, E.C.; Soares, A.; Carmo, M.G.F. e Rosetto, C.A.V.(2005) – Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. *Horticultura Brasileira*, vol. 23, p. 915-919. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000400010>
- Zambolim, L.; Cruz Filho, J.; Vale, F.X.R. e Chaves, G.M. (1990) – Emprego da calda Viçosa na cultura do tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) para controle de doenças da parte aérea. *Informe Técnico 66*, Viçosa, UFV, 7 p.