

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Metodologia de avaliação para seleção de genótipos  
de tomateiro com resistência parcial à murcha-de-  
fusário**

**Mayara dos Santos Rocha**

**2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO PARA SELEÇÃO DE GENÓTIPOS  
DE TOMATEIRO COM RESISTÊNCIA PARCIAL À MURCHA-DE-  
FUSÁRIO.**

**MAYARA DOS SANTOS ROCHA**

*Sob orientação da Professora*  
**Margarida Goréte Ferreira do Carmo**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Fitotecnia**, Área de Concentração em Produção Vegetal.

Seropédica, RJ  
Julho de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R672 m Rocha, Mayara dos Santos, 1991-  
Metodologia de avaliação para seleção de genótipos de  
tomateiro com resistência parcial à murcha-de-fusário  
/ Mayara dos Santos Rocha. - Seropédica, 2019.  
56 f.: il.

Orientadora: Margarida Goréte Ferreira do Carmo.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Fitotecnia, 2019.

1. Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. 2.  
Solanum lycopersicum. 3. Controle genético. I. do  
Carmo, Margarida Goréte Ferreira, 1963-, orient. II  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Fitotecnia III. Título.

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - A autora”.

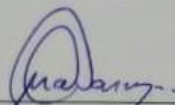
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

MAYARA DOS SANTOS ROCHA

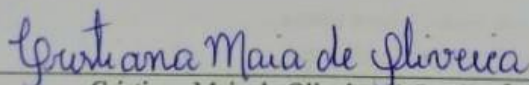
Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestra em Fitotecnia,  
no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFRRJ, área de concentração Produção  
Vegetal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 30/07/2019

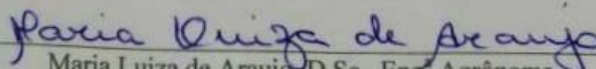
BANCA EXAMINADORA:



Prof<sup>a</sup> Margarida Gerete Ferreira do Carmo, D.Sc., Eng<sup>a</sup> Agrônoma  
UFRRJ/IA/Depto. Fitotecnia (DF)  
(Orientadora/Presidente)



Cristiana Maia de Oliveira, D.Sc., Eng<sup>a</sup> Agrônoma  
IFMS  
(Membro titular)



Maria Luiza de Araujo, D.Sc., Eng<sup>a</sup> Agrônoma  
PESAGRO-RIO  
(Membro titular)

## DEDICATÓRIA

*À Deus e a todas as pessoas que me ajudaram nesta caminhada, em especial aos meus pais, Selma dos Santos Rocha e José Alexandre de Araújo Rocha, por sempre confiarem em mim e me apoiarem em tudo, apesar de todas as dificuldades; aos meus avós, Eulanda de Araújo Rocha e Virgílio da Silva Rocha (in memoriam) e a minha irmã Viviane dos Santos Rocha, pelo incentivo e carinho. Desejo poder ter sido merecedora do esforço dedicado por vocês, especialmente quanto a minha formação,*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por nunca ter me desamparado nos momentos difíceis.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade concedida para a minha formação como Engenheira Agrônoma.

Ao curso de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFRRJ pela oportunidade de cursar o mestrado.

À CAPES pela bolsa concedida.

À minha orientadora, Margarida Goréte Ferreira do Carmo, pela confiança, ensinamentos e paciência ao longo desses dois anos.

Aos amigos do LabEPS, Cristiana, Carlos, Jéssica, Cíntia, Nataly, Caio, Rita, Laura, Adriano, e aos agregados Jaqueline, Gustavo, Marinete e Tatiana pela convivência, apoio, amizade e ajuda nos trabalhos.

Às amigas-irmãs ruralinas, Bianca, Camila, Cíntia, Jéssica Leal, Jéssica Lima, Rafaela e Stéfanny, por terem me ajudado tanto durante minha jornada na Universidade, obrigada pelos momentos maravilhosos e pelo aprendizado que vocês me proporcionaram, amo muito vocês.

Ao amigo mais especial que a rural poderia me dar, João Ciriaco,

Ao tio Roberto e à tia Elizabete por terem me abrigado e cuidado de mim como filha,

Ao meu namorado Derique por todo amor e apoio.

À minha família Santos e Rocha, especialmente meus pais, José Alexandre e Selma, que venceram todas as dificuldades para que pudessem me proporcionar uma formação de qualidade. Agradeço pelo amor e carinho que tanto me dedicam. E, à minha irmã Viviane pelo amor, carinho e incentivo.

Agradeço a todos os demais que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES - Código de Financiamento 001), da Fundação de Ampara à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

## RESUMO GERAL

Rocha, Mayara dos Santos. **Metodologia de avaliação para seleção de genótipos de tomateiro com resistência parcial à murcha-de-fusário**. 2019. 43p. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

A murcha-de-fusário do tomateiro, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*), pode causar altas perdas de produtividade e inviabilizar áreas para cultivo da espécie em diferentes regiões do mundo. O patógeno é específico do tomateiro e pode apresentar especialização fisiológica a diferentes variedades. Até o momento já foram relatadas três raças fisiológicas do patógeno, e três genes que conferem resistência tipo imunidade a estas raças. A avaliação de genótipo de tomateiro quanto a resistência a *Fol* tem sido feita utilizando metodologias que favorecem a identificação e a seleção de acessos com resistência completa em detrimento da resistência parcial. O presente trabalho teve como objetivos avaliar metodologia para identificação de genótipos portadores de resistência parcial e identificar potenciais acessos do Banco de Germoplasma da UFRRJ portadores deste tipo de resistência. O primeiro ensaio foi realizado na fase de muda, utilizando-se três isolados da raça 3 do patógeno e as variedades Ponderosa, Mascot e LA 716 *S. pennelli* como padrões. Em seguida, os três acessos mais promissores foram avaliados até a fase adulta em ensaio em condições de casa de vegetação. Paralelamente, em ensaios utilizando-se mudas em tubetes, avaliaram-se três concentrações de inóculo,  $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^6$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$ ; e três metodologias de inoculação das mudas: diretamente no solo, imersão de raiz sem corte e imersão de raiz com corte. Em ambos os ensaios, utilizaram-se três genótipos e dois isolados de *Fol*. No primeiro, utilizaram-se os genótipos ENAS 1606, PAB e Ponderosa, e os isolados MMBF 02/96 e FUS 1405 de *Fol*. No segundo, utilizaram-se os genótipos ENAS 2013, ENAS 1601 e Ponderosa, e os isolados MMBF 01/96 e FUS 2903 de *Fol*. As inoculações foram feitas aos 25 dias após o semeio e as avaliações aos 21 dias após a inoculação. Os acessos de tomateiro variaram quanto à reação de resistência/suscetibilidade aos diferentes isolados de *Fol*. O isolado FUS 1405 foi altamente virulento e proporcionou reação de suscetibilidade em todos os genótipos testados. Este resultado, porém, não se repetiu em ensaio com plantas até a fase adulta. Os métodos de inoculação direta no solo e imersão de raízes sem corte na concentração de  $1,0 \times 10^4$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$  de água e a utilização do acesso ENAS 2013 e da cultivar Mascot como padrões resultaram em uma metodologia mais adequada na seleção de genótipos portadores de resistência parcial.

**Palavras-chave:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; *Solanum lycopersicum*; Controle genético.

## ABSTRACT

Rocha, Mayara dos Santos. **Evaluation of methodology for selection of tomato genotypes with partial resistance to fusarium wilt.** 2019. 43p. (Master's Degree in Plant Science. Institute of Agronomy, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Tomato fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*), can cause high yield losses and make unfeasible areas for tomato cultivation in different regions of the world. The pathogen is specific to tomato and has physiological specialization to different cultivars. To date, three physiological races of the pathogen and three genes that confer resistance to the type of immunity to these races have been reported. The evaluation of tomato genotype for *Fol* resistance has been done using methodologies that favor the identification and selection of accessions with complete resistance over partial resistance. The present work aimed to evaluate the methodology to identify partial resistance genotypes and to identify potential accessions of the UFRRJ Germplasm Bank with this type of resistance. The first experiment was performed in seedling phase, using three pathogen isolates of race 3 and Ponderosa, Mascot and LA 716 *S. pennellii* varieties as standards. Then the three most promising accessions were evaluated until adult phase in greenhouse conditions. In parallel, experiments using seedlings in tubes, three inoculum concentration were evaluated, 104, 105 and 106 microconidia ml<sup>-1</sup>; and three seedling inoculation methodologies: directly into the soil, blunt root dipping and cut root dipping. In the experiment of concentration, three genotypes and two isolates of *Fol* were used. In the first, ENAS 1606, PAB and Ponderosa genotypes, and MMBF 02/96 and FUS 1405 *Fol* isolates were used. In the second, ENAS 2013, ENAS 1601 and Ponderosa, and MMBF 01/96 and FUS 2903 *Fol* isolates were used. Inoculations were done 25 days after sowing and evaluation at 21 days after inoculation. Reaction of tomato accessions varied to resistance / susceptibility to different *fol* levels. The FUS 1405 isolate was highly virulent and provided susceptibility reaction in all genotypes tested. This result, however, will not be repeated in plant trials until adulthood. Inoculation directly into soil and immersion of blunt roots at a concentration of 1.0x10<sup>4</sup> microconidia ml<sup>-1</sup> and the use of ENAS 2013 access and the Mascot cultivar mascot as standards resulted in a more appropriate methodology for selection of genotype carrier of partial resistance.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; *Solanum lycopersicum*; Genetic control.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Aspectos morfológicos de *Fusarium oxysporum*. A: Colônias de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. B: Macro e microconídios. C: Clamidósporo. Foto: Mayara Rocha.....4
- Figura 2.** Mudanças de tomateiro inoculadas apenas com água destilada (esquerda) e com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (direita). Foto: Mayara Rocha.....5
- Figura 3.** Sintomas causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. A e B: Amarelecimento e murcha das folhas. C: Necrose do sistema vascular. Foto: Mayara Rocha.....6
- Figura 4.** Ensaio de vaso na casa de vegetação com mudas aos 45 dias após a semeadura. ... 14
- Figura 5.** Extensão da necrose vascular (cm), porcentagem da necrose vascular (%), incidência (%), e severidade expressa em nota, massa fresca e comprimento da parte aérea de três genótipos de tomateiro inoculados com três concentrações de microconídios. mL<sup>-1</sup> (1,0x10<sup>4</sup>; 1,0x10<sup>5</sup> e 1,0x10<sup>6</sup>) do isolado MMBF 02/96 da raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em ensaio em condições de casa de vegetação. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. ....21
- Figura 6.** Extensão da necrose vascular (cm), porcentagem da necrose vascular (%), incidência (%), e severidade expressa em nota, massa fresca e comprimento da parte aérea de três genótipos de tomateiro inoculados com três concentrações de microconídios. mL<sup>-1</sup> (1,0x10<sup>4</sup>; 1,0x10<sup>5</sup> e 1,0x10<sup>6</sup>) do isolado FUS 1405 da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em ensaio em condições de casa de vegetação. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de significância. ....22

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Relação de genótipos de tomateiro avaliados na seleção de resistência parcial a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e respectivos grupos comerciais e empresas comercializadoras ou origem. .... 11
- Tabela 2.** Quantidade total de macronutrientes aplicados por vaso no dia do transplântio, 21 e 35 dias após o transplântio. .... 14
- Tabela 3.** Reação de 15 genótipos de tomateiro a três isolados (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* avaliada com base na porcentagem de necrose do sistema vascular (%), incidência de plantas infectadas (%), nota descritiva e classe de suscetibilidade e resistência conforme Reis et al. (2004), em ensaio em condições de casa de vegetação. .... 16
- Tabela 4.** Desenvolvimento relativo das plantas de tomateiro inoculadas com três isolados (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* comparadas com as plantas testemunhas não inoculadas expresso em massa fresca total e altura das hastes..... 17
- Tabela 5.** Nota e reação segundo Reis (2004) de três genótipos de tomateiro inoculados com três concentrações de microconídios mL<sup>-1</sup> ( $1,0 \times 10^4$ ;  $1,0 \times 10^5$  e  $1,0 \times 10^6$ ) do isolado MMBF 02/96 (raça 1) e FUS 1405 (raça 3) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em ensaio em condições de casa de vegetação. .... 23
- Tabela 6.** Extensão (cm) e porcentagem (%) da necrose vascular em mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com o isolado da raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (MMBF 01/96), avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019. .... 25
- Tabela 7.** Massa fresca da parte aérea (g) em mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com o isolado da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FUS 2903), avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019..... 25
- Tabela 8.** Porcentagem da área lesionada e nota segundo Reis (2004) de mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com o isolado da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FUS 2903), avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019. .... 26

<b>Tabela 9.</b> Nota, reação conforme Reis at al. (2004) e incidência em mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com um isolado da raça 1 (MMBF 01/96) e um isolado da raça 3 (FUS 2903) de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> , avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019. ....	26
<b>Tabela 10.</b> Extensão, porcentagem da necrose vascular, nota e reação de plantas de 5 genótipos de tomateiro inoculados com 3 isolados da raça 3 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) 60 dias após a inoculação, em ensaio de vaso sob condições de casa de vegetação. Abril/Junho de 2019. ....	29
<b>Tabela 11.</b> Extensão da necrose vascular, comprimento da parte aérea, nota e reação de plantas de 5 genótipos de tomateiro inoculados com 3 isolados da raça 3 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) 90 dias após a inoculação, em ensaio de vaso sob condições de casa de vegetação. Abril/Julho de 2019. ....	30
<b>Tabela anexo 1.</b> Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo, isolado e da interação entre genótipo e isolado em teste com três isolados da raça 3 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> em condições de casa-de-vegetação. Mai/Jun de 2018. ....	39
<b>Tabela anexo 2.</b> Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo, concentração de esporos e da interação entre genótipo e concentração de esporos em teste de inoculação com um isolado da raça 1 (MMBF 02/96) e um isolado da raça 3 (FUS 1405) de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> em condições de casa-de-vegetação. Nov/Dez de 2018. ....	40
<b>Tabela anexo 3.</b> Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função da metodologia de inoculação e da interação entre genótipo e metodologia de inoculação em teste com três genótipos de tomateiro inoculados com um isolado da raça 1 MMBF 01/96 (raça 1) e um isolado da raça 3 (FUS 2903) de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> em condições de casa-de-vegetação. Abril/Maio de 2019. ....	41
<b>Tabela anexo 4.</b> Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo e isolado em experimento com três isolados da raça 3 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> avaliados 30 dias após inoculação em condições de casa-de-vegetação. Abril/Maio de 2019. ....	42
<b>Tabela anexo 5.</b> Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo, isolado e da interação entre genótipo e isolado em experimento com três isolados da raça 3 de	

*Fusarium oxysporum* f. sp.*lycopersici*, avaliados 60 dias após inoculação em condições de casa-de-vegetação. Abril/Jul de 2019.....42

**Tabela anexo 6.** Análise de variância para efeito de genótipo, isolado e da interação entre genótipo e isolado em experimento com 5 genótipos de tomateiro inoculados com 3 isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp.*lycopersici* avaliados 90 dias após inoculação em condições de casa-de-vegetação. Abril/Jul de 2019.....43

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>2</b>
2.1 A cultura do tomateiro .....	2
2.2 Murcha-de-fusário do tomateiro .....	3
2.3 Resistência de tomateiro a <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> .....	8
2.4 Metodologia de avaliação de resistência de tomateiro a <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> .....	9
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
3.1. Obtenção e preservação de isolados de <i>Fol</i> .....	10
3.2. Identificação e seleção de padrões de resistência parcial a <i>Fol</i> .....	10
3.2.1 Seleção e plantio das variedades .....	10
3.2.2 Preparo do inóculo e inoculação .....	11
3.2.3 Avaliação .....	12
3.3 Definição de metodologia de inoculação e de concentração de inóculo .....	12
3.4. Avaliação da resistência parcial até a fase adulta .....	13
3.4.1 Preparo das mudas e condução das plantas em casa de vegetação .....	13
3.4.3 Preparo do inóculo e inoculação .....	14
3.4.5 Avaliações .....	15
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>15</b>
4.1. Identificação e seleção de padrões de resistência parcial a <i>Fol</i> .....	15
4.2.1 Concentração de inóculo .....	19
4.2.2 Metodologia de inoculação .....	23
4.2 Avaliação da resistência parcial até a fase adulta .....	27
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>31</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é a segunda hortaliça mais produzida no Brasil e no mundo (CAMARGO FILHO e CAMARGO, 2017). O Brasil é o nono maior produtor mundial, com produção de 3,7 milhões de toneladas por ano colhidos em uma área de cerca de 59.000 hectares (IBGE, 2019). No entanto, o seu cultivo enfrenta vários desafios, dentre os quais os de ordem fitossanitária como a murcha-de-fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W. C. Snyder e H. N. Hansen (*Fol*), fungo necrotrófico, habitante do solo e patógeno específico do tomateiro.

Patógenos de *F. oxysporum* apresenta especificidade a nível de espécie hospedeira, caracterizada como *formae specialis*, e, em vários casos, especialização a nível varietal, caracterizada como raças em relação tipicamente gene a gene. Até então já foram identificadas três raças fisiológicas de *Fol*, nomeadas em ordem conforme a data de detecção e relato. As raças 1 (BOOTH, 1971) e 2, (ALEXANDER e TUCKER, 1945) encontram-se amplamente distribuídas em todo o mundo, enquanto a raça 3 (GRATTIDE e OBRIEN, 1982) apresenta distribuição geográfica mais restrita. Em contraponto, já foram identificados três genes, *I*, *I-1*, *I-2* e *I-3*, que conferem resistência às raças 1, 2 e 3 (BIJU et al., 2017) e o gene *I-7* que confere resistência a todas as raças (GONZALEZ-CENDALES et al., 2016). Estes genes foram introgrididos no tomateiro a partir de *S. pimpinellifolium* e *S. pennellii* (BOHN e TUCKER, 1939; LIM et al., 2006) e, conferem resistência completa, relatada como Semelhante a Imune (SI) (SANTOS JÚNIOR et al., 2009). A maioria das cultivares atualmente plantadas no Brasil é resistente às raças 1 e 2 e apenas uma minoria resistente à raça 3 (OLIVEIRA, 2017). Estas cultivares apresentam os genes isolados ou combinados de forma a conferir resistência a uma ou mais raças de *Fol*.

A grande maioria dos trabalhos com resistência de tomateiro a *Fol* utilizam a mesma metodologia de avaliação (SANTOS, 1997) com algumas variações, que são bastante eficientes para a identificação de genótipos portadores de resistência completa ou semelhante a imune (SI) (SANTOS JÚNIOR et al., 2009) mas que podem dificultar a identificação de genótipos portadores de resistência parcial ou quantitativa. Este tipo de resistência pode, muitas vezes, ser encontrado em genótipos de tomateiro que poderiam ser uma boa fonte de resistência para programas de melhoramento devido à facilidade de uso nos cruzamentos (RIBEIRO DO VALE et al., 2001) o que poderia facilitar a obtenção de cultivares com resistência mais durável ou estável ao longo do tempo (MUNDT, 2014).

Diante do exposto, e dada a escassez de estudos com genótipos de tomateiro portadores de resistência parcial à murcha-de-fusário, desenvolveu-se o presente trabalho com o objetivo de padronizar uma metodologia para avaliação e caracterização de genótipos de tomateiro quanto a esta característica. Desta forma, o presente trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: a) identificar e selecionar genótipos de tomateiro portadores de resistência parcial a *Fol* e seleção de genótipos como padrão de resistência parcial em ensaios futuros; b) ajustar concentração de inóculo na suspensão e metodologia de inoculação em ensaios com mudas; c) avaliar os genótipos pré-selecionados como portadores de resistência parcial até a fase de produção.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A cultura do tomateiro

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. (= *Lycopersicon esculentum* Mill.) pertence à família *Solanaceae* assim como outras hortaliças de valor econômico, como a batata (*S. tuberosum* L.), o jiló (*S. gilo* Raddi), a berinjela (*S. melongena* L.) e o pimentão (*Capsicum annuum* L.) (FILGUEIRA, 2008). O tomateiro pertence ao gênero *Solanum*, seção *lycopersicum* que inclui o tomate cosmopolita cultivado, única espécie domesticada, e mais 12 espécies silvestres que possuem ampla diversidade genética, como o *S. chilense* Dun., *S. peruvianum* (L.) Mill., *S. pennelli*. (Corr.) D'Arcy. e *S. hirsutum* Humb. & Holle (PERALTA e SPOONER, 2006; ALVARENGA, 2013).

A espécie *S. lycopersicum* assim como outras espécies silvestres de *Solanum* possuem como centro de origem a região que compreende uma faixa costeira do Andes que se estende desde a Colômbia passando pelo Equador, Peru, Bolívia e até o Chile (BAI, 2007). O tomateiro foi domesticado no México e levado para a Europa pelos espanhóis, por volta de 1550, e introduzido no Brasil somente no final do século XIX pelos imigrantes europeus e japoneses (FONTES e SILVA, 2002).

Atualmente, o Brasil é o nono maior produtor de tomate do mundo e o primeiro da América Latina com uma contribuição anual de cerca de 4 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2018). A área cultivada com tomateiro no Brasil é de cerca de 59.726 hectares e com um rendimento médio de 68,4 Mg.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2019). De acordo com Reetz et al. (2014), cerca de 37% desta produção é destinada ao processamento industrial e 63% ao consumo *in natura*. Entre os principais Estados produtores, encontram-se Goiás, essencialmente tomate para a indústria, e São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Rio de Janeiro. E, de acordo com dados da EMATER (2017), a produção de tomate no Estado do Rio de Janeiro em 2016 foi de 150.367,52 toneladas, com destaque para os municípios de Nova Friburgo, São José de Ubá, Itaocara e Paty do Alferes.

Apesar de ser uma planta perene, o tomateiro é cultivado como anual. A espécie pode apresentar dois tipos de hábito de crescimento: indeterminado, caracterizado pela presença de dominância apical e; determinado, com ausência de dominância apical (FILGUEIRA, 2008). Apresenta fácil adaptação a diferentes condições climáticas, sendo favorecido, porém, por condições de ambiente com predomínio de alta luminosidade e temperaturas amenas, em torno de 13 a 25°C, e seco. Alta umidade pode afetar o amadurecimento dos frutos e também favorecer o desenvolvimento de algumas doenças (ALVARENGA, 2013). O tomateiro se desenvolve bem em diferentes tipos de solo, sendo mais adequados, porém, aqueles que apresentam bons níveis de matéria orgânica, boa drenagem, pH variando entre 5,5 a 7,5, e elevada fertilidade.

Por ser uma espécie sensível a variáveis climáticas e muito suscetível a pragas e doenças, a ocorrência de quedas de safra e grandes variações nos preços de comercialização são frequentes. Dentre os fatores bióticos, as doenças de etiologia fúngica destacam-se devido à frequência e à gravidade com que ocorrem. Dentre estas, destaca-se a murcha-de-fusário do tomateiro, doença de ocorrência generalizada em países onde o tomateiro é cultivado (KUROZAWA e PAVAN, 2005).

## 2.2 Murcha-de-fusário do tomateiro

No gênero *Fusarium* encontram-se fungos filamentosos do filo *Ascomycota*, classe *Sordariomycetes* e ordem *Hypocreales* (INDEX FUNGORUM, 2018). Esses fungos são cosmopolitas e muitos destes são habitantes do solo onde sobrevivem em abundância e frequente associação com raízes de plantas ou em atividade parasítica e saprofítica. Este gênero possui espécies que causam doenças em muitas culturas de interesse econômico, incluindo as murchas, podridões e cancrios (BOOTH, 1971). No tomateiro as espécies de *Fusarium* mais comuns como causadoras de doença são *F. solani*, *F. oxysporum* e *F. equiseti* (MA et al., 2013).

As murchas estão associadas a formas patogênicas de *F. oxysporum* que possuem especialização fisiológica a nível de espécie hospedeira que são identificadas como *formae speciales*. Dentre estas está *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*) (MCGOVERN, 2015). *Fol* é o agente causal da murcha-de-fusário do tomateiro, responsável por altas perdas de rendimento e de qualidade em áreas de cultivo de tomate em todo o mundo (BAWA, 2016).

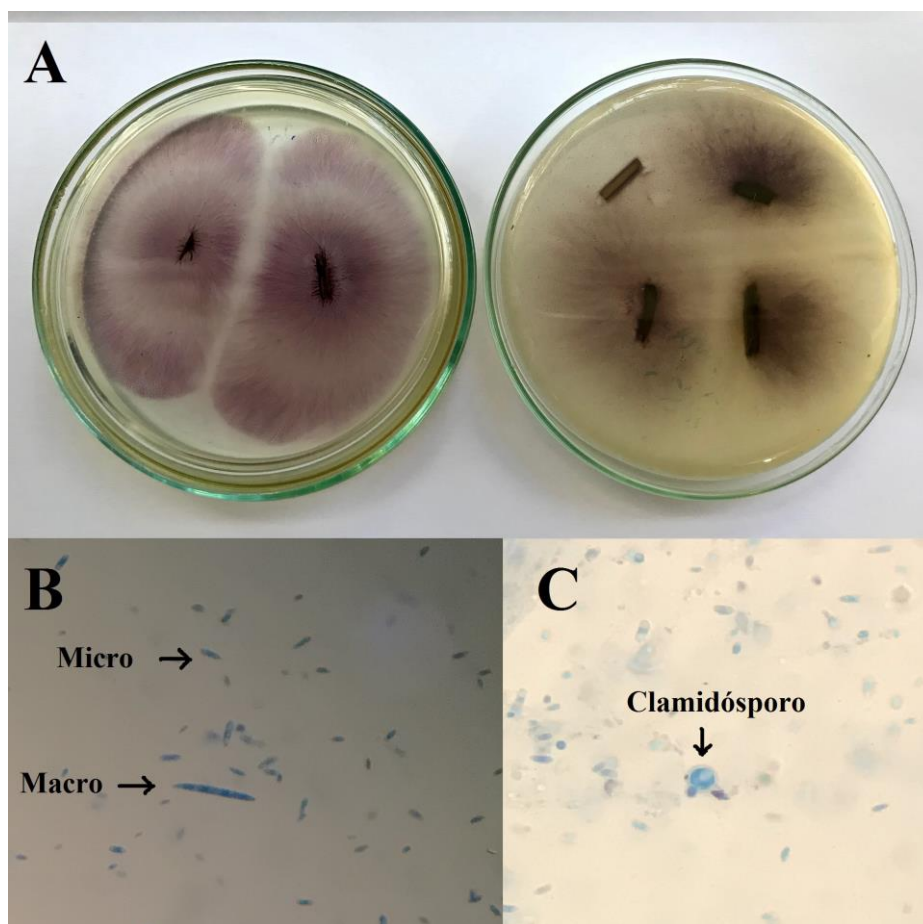
Até o momento, três raças fisiológicas de *Fol* já foram identificadas, sendo estas diferenciadas pela habilidade de infectar variedades portadoras de genes específicos de resistência (AMINI, 2010). As raças 1 e 2 encontram-se amplamente distribuídas em todo o mundo e, a raça 3 possui uma distribuição geográfica mais restrita (PEREIRA e PINHEIRO, 2014). A raça 1 foi descoberta por Booth em 1886 (BOOTH, 1971). A raça 2 foi reportada no Estado de Ohio em 1945 por Alexander e Tucker (1945) e a raça 3 foi reportada na Austrália em 1978 por Grattidge e O'Brien (1982).

No Brasil, o primeiro relato da doença foi feito em 1938 no município de Pesqueira, no Estado de Pernambuco (DESLANDES, 1940). A associação da doença a duas raças distintas de *Fol*, 1 e 2, foi feita em 1941 no Estado de São Paulo (ARRUDA, 1941). O relato de uma terceira raça no Brasil somente ocorreu em 2005 no município de Venda Nova do Imigrante no Estado do Espírito Santo (REIS et al., 2005).

Se até então tinha-se uma ampla distribuição apenas das raças 1 e 2, desde 2005 vem-se observando uma grande disseminação também da raça 3, já relatada nos Estados do Espírito Santo (REIS et al., 2005), Rio de Janeiro (REIS e BOITEUX, 2007; OLIVEIRA, 2017), Bahia (BARBOZA et al., 2013) e Minas Gerais (GONÇALVES et al., 2013). No Estado do Rio de Janeiro, a raça 3 já foi relatada nos municípios de São José de Ubá e Itaocara (REIS e BOITEUX, 2007) e Nova Friburgo (OLIVEIRA, 2017).

Em meio batata-dextrose-ágar (BDA) a morfologia da colônia pode ser muito variável e se caracteriza por rápido crescimento. A coloração pode variar de violeta à púrpura escuro ou creme à laranja (Figura 1A). A espécie *F. oxysporum* produz três tipos de esporos assexuais - microconídios, macroconídios e clamidósporos (Figuras 1B e 1C) que são importantes na identificação morfológica do patógeno (ANDRADE, 2009).



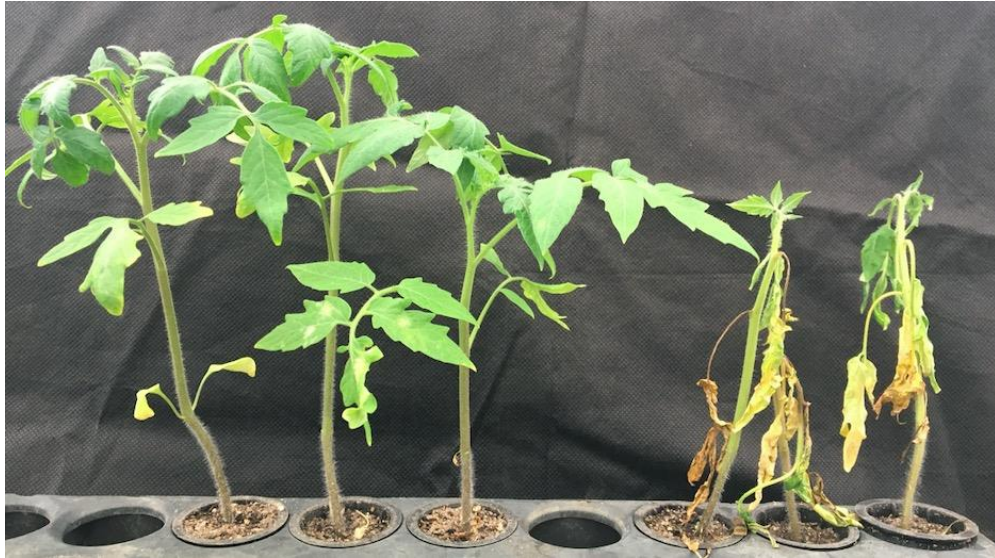


**Figura 1.** Aspectos morfológicos de *Fusarium oxysporum*. A: Colônias de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. B: Macro e microconídios. C: Clamidóspero. Foto: Mayara Rocha.

Os macroconídios são hialinos, alantoides, variando de 2 a 4 septos e com paredes finas. Os microconídios também são hialinos, porém elíticos, contendo uma ou duas células. Os clamidósporos possuem parede espessa e lisa e são formados a partir da modificação da espessura da parede de hifas ou de células conidióforas (MCGOVERN, 2015). Pode também formar esporodóquios pela aglomeração de conidióforos (PEREIRA e PINHEIRO, 2014).

O patógeno, *Fol*, pode sobreviver no solo por mais de dez anos por meio dos clamidósporo, em restos culturais como saprófita, e em alguns casos, associado ao sistema radicular de outras plantas (MCGOVERN, 2015). O ciclo de infecção do tomateiro inicia-se com germinação dos esporos no solo, em resposta a exsudados liberados pelas raízes da planta (THANGAVELU et al., 2003; DI PIETRO et al., 2003). Após germinação, hifas infectivas se aderem à superfície de raízes e penetram na epiderme radicular (RODRIGUEZ GALVEZ e MENDGEN, 1995). O micélio cresce e avança nos espaços intercelular e intracelular do córtex radicular, até alcançar os vasos do xilema (BISHOP e COOPER, 1983; BECKMAN, 1987). No xilema, o patógeno assume um caráter endofítico, colonizando exclusivamente as suas células (BISHOP e COOPER, 1983). Com o avanço do processo de colonização, ocorrem obstruções dos vasos e bloqueio ao fluxo de água com consequente murcha, sintoma característico, que pode levar à morte da planta. Após a morte da planta, as hifas crescem em todos os tecidos da planta seguido de esporulação intensa inclusive na superfície dos tecidos (DI PIETRO et al., 2003).

A doença pode se manifestar em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, inclusive em mudas (Figura 2), no entanto, é mais comum em plantas adultas, principalmente na fase de florescimento e frutificação devido ao aumento da demanda por água e nutrientes (KUROZAWA e PAVAN, 2005).



**Figura 2.** Mudas de tomateiro inoculadas apenas com água destilada (esquerda) e com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (direita). Foto: Mayara Rocha.

Segundo Reis (2004), a doença causa epinastia das folhas mais velhas, seguido de murcha e morte. Os sintomas iniciam-se pelo amarelecimento das folhas mais velhas seguido de murcha e necrose (Figura 3A e 3B).



**Figura 3.** Sintomas causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. A e B: Amarelecimento e murcha das folhas. C: Necrose do sistema vascular. Foto: Mayara Rocha.

Com o avanço da doença, as folhas mais jovens também amarelecem e murcham, principalmente nas horas mais quentes do dia, até a murcha tornar-se irreversível. Esses sintomas são causados pela obstrução do fluxo de água e nutrientes que ocorre devido à colonização dos vasos do xilema pelo patógeno e pelo acúmulo de géis, gomas e de tiloses que é uma estratégia de defesa da planta (PEREIRA e PINHEIRO, 2014). Em viveiros, sob condições de alta temperatura e umidade, o patógeno pode causar tombamentos nas plântulas. No campo, a sua ocorrência, normalmente é observada em reboleiras (TOKESHI e CARVALHO, 1980). O diagnóstico da doença pode ser feito com corte da haste e observação de vasos necrosados de coloração marrom intensa seguido de observação em microscópio ótico para visualização das estruturas do fitopatógeno (Figura 3C) (PEREIRA e PINHEIRO, 2014).

As condições de ambiente como temperatura, umidade e pH do solo são importantes para o desenvolvimento da doença (ALHUMSAEN, 2012). É favorecida por temperaturas na

faixa de 21 a 33°C (BAWA, 2016), com ótimo a 28° C (WALKER, 1971; BOIX-RUÍZ et al., 2015); solos com baixa umidade (KUROZAWA e PAVAN, 2005), mais arenosos e ácidos (BAWA, 2016). Além disso, os nutrientes minerais também podem influenciar na patogênese devido as alterações metabólicas, histológicas ou citológicas (MARSCHNER, 2012). A disponibilidade de cálcio e a fonte de nitrogênio utilizada também pode afetar a suscetibilidade do tomateiro a murcha-de-fusário (Carvalho et al., 2003). Fertilizantes minerais à base de  $\text{NH}_4^+$  reduzem o pH do solo resultando no aumento da taxa de adesão e colonização dos pelos absorventes e da região da coifa e afetam a população microbiana da rizosfera, incluindo importantes grupos com atividade antagônica, como *Pseudomonas* fluorescentes, *Trichoderma* spp. e *Gliocladium* spp (Carvalho et al., 2003).

O manejo e os tratos culturais também influenciam na ocorrência da doença. Oliveira (2017) constatou que no município de Nova Friburgo, RJ, a adoção de um conjunto de práticas culturais tem favorecido a dispersão e sobrevivência de *Fol*, como o cultivo sistemático de tomateiro há mais de 20 anos, a não adoção de práticas de conservação do solo e a não limpeza prévia de maquinários e implementos; a incorporação dos restos culturais ao solo, a reutilização de estacas e a não correção da acidez do solo. Como principal estratégia de controle tem sido feito o plantio de cultivares resistentes às raças 1 e 2, que vem levando à seleção e predomínio da raça 3 (Oliveira, 2017). De acordo com Reis (2007) a principal forma de disseminação da raça 3 em áreas geograficamente isoladas pode ter sido via sementes contaminadas. A principal estratégia para o controle da doença deve ser baseada no princípio da exclusão visto que, após sua introdução e dispersão, sua erradicação é difícil. Medidas de caráter preventivo devem ser priorizadas (AJIGLOBA e BABALOLA, 2013) por meio de uso de sementes e mudas sadias, plantio em áreas livres do patógeno e manejo conservativo do solo. Após sua introdução, devem ser adotadas práticas como controle cultural, biológico e, principalmente, genético (PEREIRA e PINHEIRO, 2014). O controle cultural baseia-se na adoção de práticas culturais que levem a condições menos favoráveis ao crescimento do patógeno e ao processo de infecção e colonização da planta (AJILOGBA e BABALOLA, 2013). Um dos maiores desafios no controle da murcha-de-fusário, é o fato de o patógeno possuir grande longevidade no solo, mesmo na ausência de seu hospedeiro (MCGOVERN, 2015). A remoção dos resíduos culturais do tomateiro da área de cultivo, para reduzir o potencial de inóculo no solo deve ser feito ao final do ciclo (BAWA, 2016), e a rotação de cultura com espécies não hospedeiras também deve ser empregada. Espécies de gramíneas, por exemplo, podem ser utilizadas por 5 a 7 anos. Como a acidez do solo (pH) também é um fator importante, a calagem deve ser realizada, assim como uma adubação equilibrada (ALHUMSAEN, 2012; AJILOGBA e BABALOLA, 2013).

A solarização do solo também é uma importante estratégia para o controle de patógenos de solo (SALIM et al., 2017). A solarização é geralmente realizada no verão quando a temperatura do ar é alta e a radiação solar é intensa (BAWA, 2016). Além disso, essa prática também pode ser utilizada no controle de nematoides que também favorecem a infecção do tomateiro por *Fol* (PEREIRA e PINHEIRO, 2014). Seu uso, porém, é mais restrito por dificuldades práticas.

A elevação da matéria orgânica no solo pela adição de esterco e compostos orgânicos também deve ser considerada por favorecer a microflora do solo (PEREIRA e PINHEIRO, 2014). Compostos orgânicos são conhecidos por suprimirem uma grande variedade de doenças causadas por patógenos de solo, incluindo espécies de *Fusarium* (BONANOMI et al., 2007). De acordo com estudos realizados por Borrero et al. (2004), a aplicação de composto orgânico pode suprimir a murcha-de-fusário causada por *Fol*. No entanto, há controvérsias, visto que o fungo possui atividade saprofítica.

O controle biológico também tem sido preconizado. Bawa (2016) obteve resultados positivos com o uso de isolados de *F. oxysporum* não patogênicos e também avirulentos ao

tomateiro no controle da doença. Estes podem competir por sítios de infecção e nutrientes, além de induzirem a resistência nas plantas hospedeiras. Experimentos desenvolvidos por Verma (2017) comprovaram que o uso conjunto de *Trichoderma viride* e *Trichoderma* sp. diminuíram a incidência da murcha de fusário em tomate. Rocha et al. (2017) também comprovaram que a combinação de duas estirpes de *Bacillus toyonensis* e *B. megaterium* foi eficaz no controle da murcha-de-fusário de tomateiro e no estímulo do desenvolvimento da planta em solos contaminados pelo fitopatógeno.

O controle genético é uma das mais importantes estratégias para redução das perdas pela doença. Em áreas de cultivo onde *Fol* já se encontra presente, o método de controle mais prático, econômico e ambientalmente seguro é o genético, através do uso de cultivares resistentes. Atualmente, a maioria das cultivares de tomate de mesa ou para processamento utilizadas no Brasil possuem genes de resistência às raças 1 e 2 de *Fol*. Para a raça 3 poucos exemplos de cultivares de tomateiro resistentes estão disponíveis no Brasil. O uso da enxertia em porta-enxertos de tomateiro resistentes também tem praticado como uma alternativa viável no controle da doença em áreas contaminadas (CANTU et al., 2014), especialmente em cultivos protegidos.

### 2.3 Resistência de tomateiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

A resistência de plantas a doenças pode ser definida como resultado da redução do crescimento ou do desenvolvimento do patógeno devido a uma série de mecanismos de defesa (RIBEIRO DO VALE, 2001). De forma geral, a resistência de plantas a patógenos pode ser classificada em dois tipos: resistência qualitativa e a resistência quantitativa (MCGOVERN, 2015). A resistência qualitativa, também referida como completa ou monogênica, é conferida por um gene de efeito principal (NIKS et al., 2015). A resistência completa é, em geral, comandada por genes dominantes e resulta de uma interação gene a gene conforme definido por Flor (1956). Os genes que conferem resistência às raças de *Fol* são conhecidos como genes *I* (de imunidade) e foram identificados em tomates silvestres e introduzidos no tomateiro cultivado. Os genes *I* e *I-1* descobertos em *S. pimpinellifolium* e *S. pennellii*, respectivamente, conferem resistência à raça 1; o gene *I-2* descoberto em *S. pimpinellifolium*, confere resistência à raça 2, e os genes *I-3* e *I-7*, encontrados em *S. pennellii*, conferem resistência à raça 3 (TAKKEN e REP, 2010). Os genes de avirulência, *Avr1*, *Avr2* e *Avr3* respectivamente provenientes das três raças fisiológicas do fungo, são reconhecidos pelas cultivares de tomate que possuem os respectivos genes de resistência que acionam ou desencadeiam uma série de mecanismos de defesa da planta contra o patógeno. Uma das maneiras de se identificar a raça fisiológica de *Fol* é através do uso de variedades diferenciadoras portadoras de genes de resistência ou através de técnicas moleculares (PEREIRA e PINHEIRO, 2014; OLIVEIRA 2017). Durante o processo de infecção o patógeno produz proteínas, chamadas SIX (“secreted in xylem”), que ajudam também na identificação da *formae speciales* e das raças de *Fol*. Em *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, as proteínas SIX1, SIX2, SIX3 e SIX5 estão presentes e são utilizados na identificação das raças fisiológicas (LIEVENS et al., 2009).

Embora a principal base do controle genético da murcha-de-fusário seja a resistência completa, este tipo de resistência não tem sido durável. De acordo com Lima et al. (2005) variantes de um patógeno, gerados a partir de mutação ou recombinação, podem possuir alelos alternativos em *locos* de avirulência que podem resultar na “quebra” da resistência da planta. Andrade (2009) também relata que a utilização intensiva de cultivares resistentes a apenas uma raça pode favorecer a seleção de variantes virulento de outras raças do patógenos.

Já a resistência quantitativa, às vezes referida como parcial, incompleta ou poligênica, é conferida pela ação de um ou mais genes que contribuem quantitativamente para o nível de defesa da planta (MCGOVERN, 2015). Esta resistência é por natureza raça não-específica e por isso também definida como durável e sua expressão é influenciada pelas condições de ambiente, quantidade de inóculo adequado para infecção e idade da planta (MUNDT, 2014). Plantas portadoras de resistência parcial, podem expressar diferentes níveis de severidade dependendo das condições de ambiente, método de inoculação dentre outros (ZAMBOLIM et al., 2014).

#### **2.4 Metodologia de avaliação de resistência de tomateiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***

Diferentes métodos de avaliação são citados para caracterização e quantificação da resistência de plantas a fitopatógenos. Em geral, a resistência qualitativa é a mais utilizada em programas de melhoramento visando o desenvolvimento de cultivares resistentes. O método de avaliação da resistência de tomateiro a *Fol* mais utilizado foi descrito por Santos (1997) e consiste na inoculação de mudas e avaliação após 21 dias com auxílio de escala descritiva. Trata-se de procedimento drástico com corte das raízes das mudas jovens seguido de imersão em suspensão de conídios concentrada,  $1,0 \times 10^6$  microconídios  $\text{mL}^{-1}$ . Aos 21 dias após, classificam-se os sintomas em cinco categorias ou notas: 1) plantas sem sintomas; 2) plantas sem sintomas de murcha ou amarelecimento, mas com escurecimento vascular; 3) plantas com escurecimento vascular e com murcha ou amarelecimento foliar; 4) plantas com murcha intensa, associada com amarelecimento e necrose foliar e, 5) plantas mortas (SANTOS, 1997). Com base na média das notas, os genótipos são classificados em cinco diferentes classes de reação: semelhante a imune (SI), altamente resistentes (AR), medianamente resistentes (MR), suscetíveis (SU) e altamente suscetíveis(AS) (REIS, 2004).

Outros autores também utilizam escalas descritivas na avaliação de reação de genótipos a *Fol*. Chopada et al. (2014) avaliaram a resistência de dez variedades de tomateiro à murcha de fusário utilizando notas sugeridas por Mandhare e Patil (1993). Nesta metodologia, primeiramente determina-se a incidência de plantas com murcha, em porcentagem e em seguida faz-se a classificação seguindo o seguinte critério: incidência entre 0 a 24% = resistente; incidência entre 25 a 49% = moderadamente resistente; incidência entre 50 a 74% - moderadamente suscetível; incidência maior que 75% = suscetível.

No entanto, estes critérios são qualitativos e, como fatores bióticos e abióticos podem causar sintomas similares a alguns dos descritos nas escalas, falhas podem ocorrer. Como critério quantitativo pode-se fazer a medição da lesão e cálculo da porcentagem da extensão da haste necrosada, além de acúmulo de massa e desenvolvimento das plantas (OLIVEIRA, 2017). Boix-Ruíz (2015) afirmam que além da observação dos sintomas causados pela doença, a necrose do xilema também é importante para confirmação do diagnóstico e melhor avaliação da resistência das plantas. Em bioensaios, Carvalho (2003) utilizou a porcentagem de infecção, relação entre a extensão dos feixes vasculares necrosados e a extensão da haste total da planta, como critério direto na avaliação da doença.

A utilização de métodos drásticos de inoculação e situações onde as plantas são expostas a condições favoráveis à doença podem dificultar a identificação de genótipos portadores de resistência parcial (OLIVEIRA, 2017) e além disso, avaliações na fase adulta devem ser realizadas para confirmação da resistência, visto que nas fases de florescimento e frutificação, a severidade da doença é maior (MCGOVERN, 2015). Sabe-se que a expressão da resistência parcial pode ser afetada por fatores ambientais, concentração do inóculo, variabilidade patogênica do isolado e método de inoculação (SOUZA et al., 2010).

O ambiente desempenha um importante papel na infecção de plantas por patógenos por interferir no processo de infecção e colonização e afetar os mecanismos de resistência da planta (WEBB, 2017). A temperatura do ar e do solo são considerados fatores importantes no desenvolvimento de *Fol* no solo por influenciar a competitividade e atividade antagônica da microbiota (ANDRADE, 2005). Webb (2017) identificou que a temperatura do ar e do solo, umidade relativa e umidade do solo são os principais fatores que influenciaram a murcha-de-fusário em beterraba.

Segundo Niks (2015), Souza et al., (2010) e Ribeiro do Vale (2001), além dos fatores ambientais, a resistência parcial também é altamente afetada pela virulência do isolado do patógeno e pela idade da planta. Portanto, a utilização de diferentes isolados do patógeno de uma mesma raça e de raças diferentes na seleção de genótipos portadores de resistência é primordial (AKRAM, 2014). Santos Júnior et al (2009) identificaram diferentes respostas de um mesmo acesso a diferentes isolados do *Fol* indicando ser esta uma fonte de variação em ensaios de inoculação.

O método de inoculação deve ser escolhido de modo a não prejudicar a identificação de plantas portadoras de resistência parcial. Portanto, métodos drásticos devem ser evitados (BOIX-RUÍZ, 2015). Segundo Webb et al. (2017), a identificação e quantificação dos níveis de resistência parcial, possivelmente, seriam mais facilmente obtidas em ensaios sob condições menos favoráveis ao patógeno. Park et al. (2013) utilizaram um método de inoculação menos agressivo na avaliação de resistência de tomate a *Fol*, no qual as raízes não cortadas são imersas por 30 minutos em suspensão contendo  $1 \times 10^7$  conídios mL<sup>-1</sup> seguido de transplantio para tubetes.

Diferentemente da resistência completa, a resistência parcial não pode ser avaliada em termos absolutos, mas sim através de comparações com padrões compostos por cultivares suscetíveis e resistentes (RIBEIRO DO VALE, 2001).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados em casa-de-vegetação no setor de Horticultura e no Laboratório de Epidemiologia e Patologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ. O primeiro ensaio para identificação e seleção do padrão de resistência parcial a *Fol* foi realizado no período de abril a junho de 2018. O ensaio para a definição da metodologia de inoculação e concentração de inóculo foi realizado no período de novembro de 2018 a abril de 2019. E o experimento de fase adulta foi realizado entre os meses de março a julho de 2019.

#### **3.1. Obtenção e preservação de isolados de *Fol***

Como inóculo para os diferentes ensaios, foram utilizados isolados de *Fol* adquiridos junto à Coleção de Culturas Fúngicas Micoteca “Mário Barreto Figueiredo”, Instituto Biológico, SP (INSTITUTO BIOLÓGICO, 2010), MMBF 01/96 e MMBF 02/96, e obtidos de plantas de tomate no município de Nova Friburgo, RJ, em 2015 por Oliveira (2017), FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302. Todos os isolados foram preservados em solo e em óleo mineral (DINGHRA e SINCLAIR, 2000).

#### **3.2. Identificação e seleção de padrões de resistência parcial a *Fol***

##### **3.2.1 Seleção e plantio das variedades**

Doze genótipos de tomateiro pertencentes ao Banco de Germoplasma do Departamento de Fitotecnia, previamente identificados por Oliveira (2017) como portadores de resistência parcial às raças 1 e 2, foram caracterizados quanto a resistência à raça 3 de *Fol* (Tabela 1). Os acessos testados foram: ENAS 1229, ENAS 2045, ENAS 1218 e ENAS 1601, caracterizados como altamente resistente á raça 1; ENAS 1223, ENAS 2020 e ENAS 1404, caracterizados como altamente resistentes à raça 2; ENAS 2013, ENAS 2029, ENAS 2054, ENAS 2018 e ENAS 2055, caracterizados como moderadamente resistente às raças 1 e 2. Como padrões de suscetibilidade e de resistência utilizaram-se as variedades Ponderosa (altamente suscetível às raças 1, 2 e 3), *S. pennellii* LA-716 (resistente às raças 1, 2 e 3) e a cultivar Mascot, identificada como portadora de resistência parcial às raças 2 e 3 de *Fol* (Oliveira, 2017)

As sementes dos diferentes acessos e dos três padrões, de resistência e suscetibilidade, foram semeadas em bandejas de plástico de 200 células contendo substrato comercial isento de contaminação da marca Carolina e foram mantidas em casa de vegetação com temperatura controlada variando entre 25° a 30°.

**Tabela 1.** Relação de genótipos de tomateiro avaliados na seleção de resistência parcial a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e respectivos grupos comerciais e empresas comercializadoras ou origem.

Genótipo	Grupo	Empresa/Origem
ENAS 2013	Salada	UFRRJ, LabEPS
ENAS 2045	Salada	UFRRJ, LabEPS
ENAS 2020	Salada	UFRRJ, LabEPS
ENAS 2018	Salada	UFRRJ, LabEPS
ENAS 1223	Cereja	UFRRJ, LabEPS
ENAS 2029	Salada	UFRRJ, LabEPS
ENAS 1601	Cerejão	UFRRJ, LabEPS
ENAS 1218	Cereja	UFRRJ, LabEPS
ENAS 2055	Italiano	UFRRJ, LabEPS
ENAS 1229	Cereja	UFRRJ, LabEPS
ENAS 1404	Cereja	UFRRJ, LabEPS
ENAS 2054	Italiano	UFRRJ, LabEPS
Mascot	Cereja	AgriStar
Ponderosa	Salada	UFRRJ, LabEPS
LA-716	-	Embrapa Hortaliças

### 3.2.2 Preparo do inóculo e inoculação

Para avaliação da resistência dos genótipos à raça 3 de *Fol*, foram utilizados três isolados: FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302. As culturas dos três isolados foram repicadas para placas de Petri contendo o meio BDA e crescidos por 14 dias em incubadora BOD, à temperatura de 25°C sob 12 horas de luz. Para o preparo da suspensão, a superfície das placas foram lavadas com água destilada com o auxílio de um pincel de cerdas macias e, em seguida, a suspensão foi filtrada em gaze esterilizada. A concentração foi ajustada para  $1,0 \times 10^6$  microconídios.mL<sup>-1</sup>, utilizando-se câmara de Neubauer (SOUZA et al., 2010).

Para a inoculação, o substrato aderido às raízes foi removido por meio de lavagem em água corrente e, em seguida, a porção apical de aproximadamente 2,0 cm foi cortada com



tesoura flambada. Logo em seguida, as raízes foram imersas nas suspensões de conídios dos respectivos isolados por aproximadamente 5 minutos e transplantadas para tubetes contendo mistura de solo, areia e substrato esterilizados na proporção de 1:1:1. O solo e areia foram peneirados e esterilizados. A areia foi mantida em estufa a 160°C por 8 horas e o solo foi autoclavado por 1 hora em dois dias consecutivos. Após o transplante, foram adicionados 2,0 mL da suspensão de conídios dos respectivos isolados aos tubetes. Como testemunhas, três plantas de cada genótipo foram inoculadas apenas com água esterilizada.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 15 X 3, sendo 15 genótipos e três isolados e sete repetições. Como controle utilizaram-se três plantas não inoculadas de cada genótipo, totalizando 360 tubetes.

### 3.2.3 Avaliação

A avaliação foi realizada aos 21 dias após a inoculação, inicialmente pela observação da presença ou não de sintomas de amarelecimento e murcha das folhas. Em seguida, as mudas foram arrancadas e suas hastes cortadas longitudinalmente para avaliação da presença ou não de descoloração vascular e medição da extensão das lesões ou necroses. A extensão da necrose vascular e o comprimento total das hastes foi medido com o auxílio de uma régua. Com base nestas medidas foi determinada a severidade da doença através da porcentagem de necrose vascular (PNV%) realizada com base na relação:  $EDV$  (extensão da descoloração vascular/altura das haste (AH)) x 100 (CARVALHO, 2003). Ainda, a cada planta foi atribuído uma nota, de 1 a 5, conforme escala descritiva de Santos (1997), onde: 1) plantas sem sintomas; 2) plantas sem sintomas de murcha ou amarelecimento, mas com escurecimento vascular; 3) plantas com escurecimento vascular e com murcha ou amarelecimento foliar; 4) plantas com murcha intensa, associada com amarelecimento e necrose foliar e, 5) plantas mortas. A média das notas foi avaliada segundo Reis et al., (2004), onde: 1,0 = semelhante à imune (SI); 1,1-2,0= altamente resistente (AR); 2,1-3,0= medianamente resistente (MR); 3,1-4,0= suscetível (SU) e; 4,1-5,0= altamente suscetível (AS). Mediu-se ainda, a massa fresca da parte aérea (MFPA). Com base na MFPA das plantas inoculadas e nas não inoculadas estimou-se a massa fresca relativa das plantas em função da inoculação (MFR), onde  $MFR = (MFPA \text{ planta inoculada} / MFPA \text{ planta controle}) \times 100$ . O crescimento relativo (CR) foi estimado com:  $CR = (Altura \text{ da haste da planta inoculada} / Altura \text{ da haste planta controle}) \times 100$ .

### 3.3 Definição de metodologia de inoculação e da concentração de inóculo

Nestes experimentos foram utilizados genótipos portadores de diferentes níveis de suscetibilidade às três raças do patógeno, Ponderosa, Perinha Água Branca (PAB) e três acessos da coleção de germoplasma ENAS 1606, ENAS 2013 e ENAS 1601. Foram utilizados quatro isolados de *Fol*, MMBF 01/96 (raça 1), MMBF 02/96 (raça 1), FUS 1405 e FUS 2903 (raça 3). As mudas foram produzidas em bandejas de plástico de 200 células contendo substrato comercial autoclavado e mantidas em casa de vegetação. As inoculações foram realizadas quando as mudas apresentaram dois pares de folhas definitivas. O substrato aderido nas raízes das mudas foi removido antes da realização da inoculação.

### **a) Concentração de inóculo**

Inicialmente avaliou-se o efeito da concentração de conídios na suspensão. Utilizaram-se os genótipos ENAS 1606, PAB e Ponderosa e os isolados MMBF 02/96 e FUS 1405 de *Fol*. Adotou-se como metodologia de inoculação, a mais citada na literatura, imersão de raízes cortadas em suspensão de inóculo. Foram testadas três concentrações de inóculo:  $1 \times 10^6$  microconídios mL<sup>-1</sup>,  $1 \times 10^5$  microconídios mL<sup>-1</sup> e  $1 \times 10^4$  microconídios mL<sup>-1</sup>. Como testemunha utilizaram-se plantas inoculadas com água.

Foram realizados dois ensaios independentes, um para cada isolado, em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 3 x 3, três genótipos e três concentrações de inóculo. Foram feitas quinze repetições, sendo cada repetição uma planta inoculada. As avaliações foram realizadas aos 21 dias após a inoculação, seguindo o mesmo procedimento descrito no item 3.2.

### **b) Metodologia de inoculação**

Para este ensaio utilizaram-se três genótipos, ENAS 2013, Ponderosa e ENAS 1601, e dois isolados, MMBF 01/96 e FUS 2903. Avaliaram-se três métodos de inoculação do patógeno visando identificar o mais adequado para seleção de genótipos portadores de resistência parcial à murcha-de-fusário: (a) adição da suspensão de inóculo diretamente no solo/substrato, onde após a remoção do substrato aderido nas raízes as mudas foram transplantadas para o tubetes seguido da adição de 2,0 mL da solução de inóculo no substrato do tubete; (b) imersão das raízes na suspensão, sem corte prévio, onde as raízes lavadas foram emergidas na suspensão de conídios por 5 minutos e depois transplantadas para tubetes, e; (c) imersão das raízes na suspensão de inóculo com corte prévio da extremidade, onde as raízes foram lavadas e suas extremidades foram cortadas a 2,0 cm da porção apical e emergidas na suspensão de conídios por 5 minutos.

Utilizou-se a concentração do inóculo mais citada na literatura  $1 \times 10^6$  microconídios mL<sup>-1</sup> (SOUZA et al., 2010). Os esporos foram obtidos a partir de culturas crescidas em placas de Petri contendo meio BDA por 14 dias a 25°C sob 12 horas de luz. Como testemunha foram utilizadas plantas inoculadas com água.

Foram realizados dois ensaios independentes, um para cada isolado, em delineamento inteiramente ao acaso e esquema fatorial 3x3, três genótipos e três metodologias de inoculação. Foram feitas quinze repetições, sendo cada repetição uma planta inoculada. As avaliações foram realizadas aos 21 dias após a inoculação, seguindo o mesmo procedimento descrito no item 3.2.

## **3.4. Avaliação da resistência parcial até a fase adulta**

### **3.4.1 Preparo das mudas e condução das plantas em casa de vegetação**

Foram utilizados os acessos selecionados no item 3.2 como portadores de resistência parcial à *Fol*, ENAS 2013, ENAS 2018, ENAS 1404, e dois padrões, PAB, suscetível às raças 1, 2 3 3, e a cultivar Mascot da Top Seed, resistente às raças 1 e 2 e moderadamente resistente à raça 3. As sementes foram semeadas em bandejas de isopor de 128 células contendo substrato comercial, marca Carolina, e mantidas em casa de vegetação. Cerca de 25 dias após semeadura foram transplantadas para vasos de 8,0 L contendo a mistura de solo argiloso, solo arenoso e esterco bovino na proporção 2:2:1. Transplantaram-se três mudas por

vaso (Figura 4), visando a realização de três avaliações em amostras destrutivas: aos 30, 60 e 90 dias após inoculação.

No dia do transplantio, foi realizada uma adubação utilizando-se 4,0 g de uréia como fonte de nitrogênio (N), 3,0 g de super simples como fonte de fósforo (P) e 4,0 g de cloreto de potássio como fonte de potássio (K). Seguiu-se a aplicação de N e K, variando a concentração de nutrientes conforme os requerimentos da cultura, segundo recomendação de Carrijo e Makishima (1998) para cultivo em ambiente protegido (Tabela 2).

Conduziu-se apenas uma haste por planta, efetuando-se sempre que necessário os procedimentos como poda das gemas laterais, tutoramento com estacas de bambu e controle de pragas e doenças.



**Figura 4.** Ensaio em vasos na casa de vegetação com mudas aos 45 dias após a semeadura.

**Tabela 2.** Quantidade total de macronutrientes aplicados por vaso no dia do transplantio, 21 e 35 dias após o transplantio.

Dias após o transplante	Dose (g)		
	N	P	K
0	4	3	4
31	-	-	3
60	3	-	3

### 3.4.3 Preparo do inóculo e inoculação

Foram utilizados três isolados de *Fol*, FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302 (raça 3). Os esporos foram obtidos a partir de culturas crescidas em placas de Petri contendo meio BDA

por 14 dias a 25° C sob 12 horas de luz. Para o inóculo, foram utilizadas suspensões de esporos em água destilada e autoclavada na concentração de  $5,0 \times 10^5$  microconídios mL<sup>-1</sup>, ajustada em câmara de Neubaer. A inoculação foi realizada no dia do transplântio onde foi adicionado 50 mL da suspensão de esporos aos vasos, sendo utilizado apenas água destilada para o tratamento controle.

Adotou-se delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 5 x 4 e cinco repetições, e um total de 20 tratamentos, totalizando 100 vasos com 3 plantas. Compararam-se cinco variedades ENAS 2013, ENAS 2018, ENAS 1404, PAB, e a cultivar Mascot x quatro inoculações, sendo três isolados da raça 3 (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) e uma testemunha não inoculada.

### **3.4.5 Avaliações**

As avaliações foram feitas ao longo do ciclo da cultura, aos 30, 60 e 90 dias após o transplântio e inoculação. Plantas com sintomas severos e mortas foram colhidas antecipadamente para confirmação da diagnose, realizada por isolamento em cultura pura, quantificação da extensão da descoloração vascular e determinação de dados biométricos como desenvolvimento da planta e produção de frutos. Como variáveis foram consideradas massa fresca das folhas e haste, massa seca das folhas, comprimento da parte aérea, extensão da necrose vascular, porcentagem da necrose vascular e nota.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o teste F ( $p < 0,05$ ) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o programa Rbio.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Identificação e seleção de padrões de resistência parcial a *Fol***

Em nenhum dos acessos identificaram-se plantas com reação semelhante a imune (SI) a qualquer um dos três isolados utilizados, exceto as plantas de *S. pennelli* LA-716, controle de resistência completa. Observou-se, porém, variações na reação dos genótipos em função do isolado utilizado. De forma geral, o isolado FUS 1405 foi mais virulento que os demais, seguido de FUS 1302 e de FUS 2903. As plantas inoculadas com o isolado FUS 1405 apresentaram mais de 75% de necrose vascular e 100% de incidência, exceto as dos acessos ENAS 2029 e ENAS 1404. Todos os acessos apresentaram reação SU a este isolado, exceto ENAS 2013 que apresentou reação MR (Tabela 3).

**Tabela 3.** Reação de 15 genótipos de tomateiro a três isolados (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* avaliada com base na porcentagem de necrose do sistema vascular (%), incidência de plantas infectadas (%), nota descritiva e classe de suscetibilidade e resistência conforme Reis et al. (2004), em ensaio em condições de casa de vegetação.

Genótipo	Necrose vascular %			Incidência (%)			Nota			Reação		
	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302
ENAS 2013 <sup>1</sup>	89,0 Aa	43,0 Aa	64,0 Ab	100,0	57,1	85,7	2,86 Ab	2,43 Aa	2,14 Ab	MR	MR	MR
ENAS 2045 <sup>1</sup>	100,0 Aa	37,0 Ba	60,0 Ab	100,0	71,4	100,0	4,00 Aa	2,14 Ba	2,28 Bb	SU	MR	MR
ENAS 2020 <sup>1</sup>	100,0 Aa	10,0 Bb	61,0 Ab	100,0	33,0	100,0	3,67 Aa	1,33 Bb	4,00 Aa	SU	AR	SU
ENAS 2018 <sup>1</sup>	84,0 Aa	18,0 Bb	55,0 Ab	100,0	57,1	85,7	3,71 Aa	1,57 Bb	1,85 Bb	SU	AR	AR
ENAS 1223 <sup>1</sup>	77,0 Aa	52,0 Aa	28,0 Bc	100,0	100,0	57,1	3,71 Aa	2,86 Aa	2,43 Ab	SU	MR	MR
ENAS 2029 <sup>1</sup>	71,4 Aa	0,44 Bb	57,1 Ab	71,4	14,3	57,1	4,00 Aa	1,14 Bb	1,57 Bb	SU	AR	AR
ENAS 1601 <sup>1</sup>	96,0 Aa	22,0 Ba	67,0 Ab	100,0	85,7	100,0	3,71 Aa	1,86 Ba	3,71 Aa	SU	AR	SU
ENAS 1218 <sup>1</sup>	100,0 Aa	20,0 Bb	62,0 Ab	100,0	42,8	100,0	4,00 Aa	1,71 Bb	3,67 Aa	SU	AR	SU
ENAS 2055 <sup>1</sup>	100,0 Aa	37,0 Ba	100,0 Aa	100,0	71,4	100,0	4,00 Aa	2,00 Ba	3,43 Aa	SU	AR	SU
ENAS 1229 <sup>1</sup>	100,0 Aa	08,0 Bb	89,0 Aa	100,0	42,8	100,0	4,00 Aa	2,00 Ba	4,00 Aa	SU	AR	SU
ENAS 1404 <sup>1</sup>	50,0 Ab	29,0 Aa	43,0 Ab	71,4	57,1	42,8	3,14 Ab	2,14 Aa	2,00 Ab	SU	MR	AR
ENAS 2054 <sup>1</sup>	100,0 Aa	29,0 Ba	51,0 Bb	100,0	57,1	71,4	3,43 Ab	2,71 Aa	3,14 Aa	SU	MR	SU
Mascot <sup>2</sup>	49,0 Ab	00,0 Ab	16,0 Ac	71,4	00,0	71,4	2,86 Ab	1,14 Bb	1,71 Bb	MR	AR	AR
Ponderosa <sup>2</sup>	100,0 Aa	26,0 Ba	61,0 Ab	100,0	85,7	71,4	4,00 Aa	2,14 Ba	3,14 Aa	SU	MR	SU
LA-716 <sup>2</sup>	0,0 Ac	0,0 Ab	0,00 Ac	0	0	0	1,00 Ac	1,00 Ab	1,00 Ab	SI	SI	SI
CV%	70,54	45,99	22,41				52,95	34,90	20,61			

<sup>1</sup>Acesso do Banco de Germoplasma do LabEPS, <sup>2</sup>Cultivares usadas como controle, Ponderosa (suscetível as raças 1, 2 e 3), Mascot (Moderadamente resistente as raça 1, 2 e 3) e LA-716 (resistente a raça 3). Média seguida pela mesma letra minúscula entre linhas e maiúscula entre colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. \* Dados transformados ( $\sqrt{x+1}$ ). N= classificação com base na escala de notas de Santos (1997) e Reis et al. (2004), onde: SI= 1,0; AR=1,1-2,0; MR= 2,1-3,0; SU= 3,1-4,0; AS= 4,1-5,0. I = (Extensão da haste necrosada/extensão total da haste)\*100;

**Tabela 4.** Desenvolvimento relativo das plantas de tomateiro inoculadas com três isolados (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* comparadas com as plantas testemunhas não inoculadas expresso em massa fresca total e altura das hastes.

Genótipo	Massa Fresca (g)			Altura (cm)		
	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302
ENAS 2013 <sup>1</sup>	143,30 Aa	112,91 Ba	38,65 Cc	92,14 Ab	85,78 Ab	33,71 Bd
ENAS 2045 <sup>1</sup>	72,50 Ac	72,01 Ab	23,76 Bc	73,36 Ab	69,55 Ac	35,17 Bd
ENAS 2020 <sup>1</sup>	144,29 Aa	89,48 Ba	47,44 Cb	123,00 Aa	91,20 Bb	52,80 Cc
ENAS 2018 <sup>1</sup>	88,85 Ab	72,02 Ab	23,87 Bc	113,48 Aa	101,82 Aa	54,42 Bc
ENAS 1223 <sup>1</sup>	98,94 Ab	101,33 Aa	57,01 Bb	101,26 Aa	117,89Aa	76,92 Ba
ENAS 2029 <sup>1</sup>	63,36 Ac	66,98 Ab	35,13 Bc	84,99 Ab	90,65 Ab	53,82 Bc
ENAS 1601 <sup>1</sup>	39,22 Ad	29,41 Ac	11,41 Bc	76,72 Ab	53,61 Bc	28,53 Cd
ENAS 1218 <sup>1</sup>	88,99 Ab	57,75 Bb	55,99 Bb	96,68 Ab	60,71 Bc	59,69 Bb
ENAS 2055 <sup>1</sup>	80,66 Ab	74,97 Ab	31,00 Bc	87,18 Ab	78,34 Ac	51,43 Bc
ENAS 1229 <sup>1</sup>	101,77 Ab	79,02 Ba	45,09 Cb	94,83 Ab	67,53 Bc	47,58 Cc
ENAS 1404 <sup>1</sup>	79,24 Ab	82,97 Aa	61,06 Ab	81,45 Ab	78,69 Ac	62,35 Ab
ENAS 2054 <sup>1</sup>	105,58 Ab	95,72 Aa	32,12 Bc	110,01 Aa	98,86 Aa	47,83 Bc
Mascot <sup>2</sup>	98,44 Ab	98,65 Aa	46,59 Bb	86,61 Ab	88,97 Ab	58,75 Bb
Ponderosa <sup>2</sup>	78,97 Ab	59,95 Ab	23,22 Bc	94,32 Ab	71,89 Bc	45,35 Cc
LA-716 <sup>2</sup>	92,35 Ab	53,19 Bb	85,72 Aa	80,30 Ab	84,69 Ab	77,84 Aa
CV%	42,74	21,31	32,48	31,63	18,67	23,58

<sup>1</sup>Acesso do Banco de Germoplasma do LabEPS, <sup>2</sup>Cultivares usadas como controle, Ponderosa (suscetível as raças 1, 2 e 3), Mascot (Moderadamente resistente as raça 1, 2 e 3) e LA-716 (resistente a raça 3). Média seguida pela mesma letra minúscula entre linhas maiúsculas entre colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. \* Dados transformados  $\sqrt{x+1}$ . MFR = (MFPA planta inoculada/MFPA planta controle) x 100, CR = (CPA planta inoculada/CPA planta controle) x 100.

Seis dos doze acessos de tomateiro, ENAS 2020, ENAS 1601, ENAS 1218, ENAS 2055, ENAS 1229 e ENAS 2054, apresentaram reação SU ao isolado FUS 1302, sendo que em oito dos 12 acessos, ENAS 2055, ENAS 1229, ENAS 2045, ENAS 2020, ENAS 1601, ENAS 1218, ENAS 2055 e ENAS 1229, a incidência de plantas infectadas foi maior que 75% e em um destes, ENAS 2055, foi igual a 100% (Tabelas 3 e 4). Quando inoculadas como o isolado FUS 2903, a porcentagem de necrose vascular foi menor que 75% nas plantas de todos os acessos e, em apenas um acesso, ENAS 1223, foi observado 100% de plantas infectadas. Além disso, a reação variou de MR a AR em todos os acessos testados (Tabela 3 e 4). Já para o isolado FUS 1405, todos os acessos apresentaram reação de SU. Para os dois demais isolados, FUS 2903 e FUS 1302, pode-se observar maior frequência de acessos com reação AR ou com reação MR e AR, respectivamente. Essa diferença na reação dos acessos está relacionado à variação na virulência dos isolados, visto serem as mesmos genótipos das plantas e a mesma condição de ambiente (SOUZA et al., 2010; AKRAM, 2014). Este tipo de resultado é previsto por Lugo e Sanabria (2001) que afirmam que dentro de uma mesma raça fisiológica pode ocorrer variabilidade quanto à agressividade dos isolados resultando em diferentes níveis de severidade nas plantas. Desta forma, deve-se sempre utilizar mais de um isolado nos ensaios. Com base nestes resultados pode-se afirmar que tanto o isolado FUS 1405, muito virulento, como o isolado FUS 2903, pouco virulento, podem ser inadequados para este tipo de avaliação.

A variação na massa fresca das plantas inoculadas em relação às plantas não inoculadas também permitiu avaliar o efeito dos três isolados da raça 3 sobre os diferentes acessos (Tabela 4). Foi realizado um agrupamento das médias de MFR e CR pelo teste de Scott-Knott. De modo geral, quando espécies patogênicas de *Fusarium* infectam plantas hospedeiras produzem uma série de metabólitos que podem perturbar o sistema de defesa das plantas e suprimir seu crescimento (ROJAS, 2014). No entanto, o isolado FUS 1405, que causou maior severidade da doença nas mudas, proporcionou o maior desenvolvimento das mesmas. Os outros dois isolados, FUS 2903 e FUS 1302 afetaram negativamente o desenvolvimento das mudas, especialmente quando inoculadas com o isolado FUS 1302, de virulência intermediária. De acordo com Scheideler et al. (2002), existe um alto gasto de energia para a planta na expressão dos genes durante a execução da resposta de defesa. Em um experimento realizado com *Arabidopsis*, Heil e Baldwin (2002) identificaram que plantas mutantes que expressavam respostas de defesa eram raquíticas enquanto que plantas mutantes sem vias de sinalização de defesa eram mais altas, demonstrando que a resposta de defesa leva a um custo *fitness*. Portanto, para o estabelecimento de um balanço energético favorável para a defesa da planta, deve haver uma regulação positiva das vias relacionadas à defesa e regulação negativa de genes envolvidos em outras vias metabólicas (HEIL e BALDWIN, 2012).

Desta forma, genes envolvidos na fotossíntese e biossíntese de clorofila podem ser regulados de forma negativa após um processo de infecção por patógenos virulentos (ROJAS et al., 2014). Teoricamente, por ser o isolado FUS 1405 mais virulento, esperava-se um menor desenvolvimento nas mudas. No entanto, desregulações no metabolismo primário da planta causadas pela infecção deste isolado podem ter causado o efeito contrário, aumentando o desenvolvimento das mudas.

A partir dos resultados foi possível identificar o acesso ENAS 2013 como promissor e estável quanto a resistência parcial à *Fol*, pois foi o único acesso que apresentou reação MR aos três isolados, similar ao padrão de resistência parcial Mascot. A partir da reação da cultivar Mascot, MR para FUS 1405, AR para FUS 2903 e AR para FUS 1302, também foi

possível confirmar a sua potencialidade como padrão de resistência parcial. Os acessos ENAS 1404 e ENAS 2018, também demonstraram ser potenciais acessos de resistência parcial à *Fol*.

## **4.2. Definição de concentração de inóculo e de metodologia de inoculação para avaliação de níveis de resistência parcial a *Fol***

### **4.2.1 Concentração de inóculo**

No ensaio realizado com o isolado da raça 1 de *Fol* (MMBF 02/96), houve efeito significativo de genótipo, da concentração de esporos e da interação entre estes sobre a extensão e porcentagem da necrose vascular e da severidade da murcha-de-fusário, expressa em nota, e do comprimento das hastes de tomateiro (Tabela anexo 2).

Observou-se 100% de plantas infectadas nas inoculações com concentração de  $10^5$  e  $10^6$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$  e, nenhuma diferença entre os genótipos quanto à extensão e porcentagem de infecção do sistema vascular e severidade expressa em nota (Figura 5). Ou seja nestas duas concentrações de inóculo, não se conseguiu distinguir os três genótipos quanto ao nível de resistência ou suscetibilidade, sendo classificados como MR e SU. Na concentração de  $10^4$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$ , pode-se discriminar os genótipos com base nestes três critérios e classificá-los em duas categorias distintas, sendo Ponderosa como MR, e PAB e ENAS 1606 como AR (Figura 5 e Tabela 5)

Ao se comparar as concentrações de inóculo, percebe-se como tendência o aumento da intensidade da doença com o aumento da concentração de conídios e decréscimo do desenvolvimento das plantas, especialmente com as doses de  $10^4$  para  $10^5$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$  (Figura 5). Por exemplo, a acesso ENAS 1606 apresentou nota igual a 1,28, 2,28 e 3,28 quando inoculado com a concentração de  $10^4$ ,  $10^5$  e  $10^6$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$ , respectivamente, o que equivale à classificação como AR, MR e SU (Figura 5). A variedade Ponderosa apresentou poucas variações quanto à nota em função da concentração de inóculo, cerca de 3, o que equivale à classificação como MR a SU. A variedade PAB manteve nota variando de 1,85 a 2,85 com o aumento da concentração de conídios, o que equivale à classificação variando de AR a MR (Figura 5).

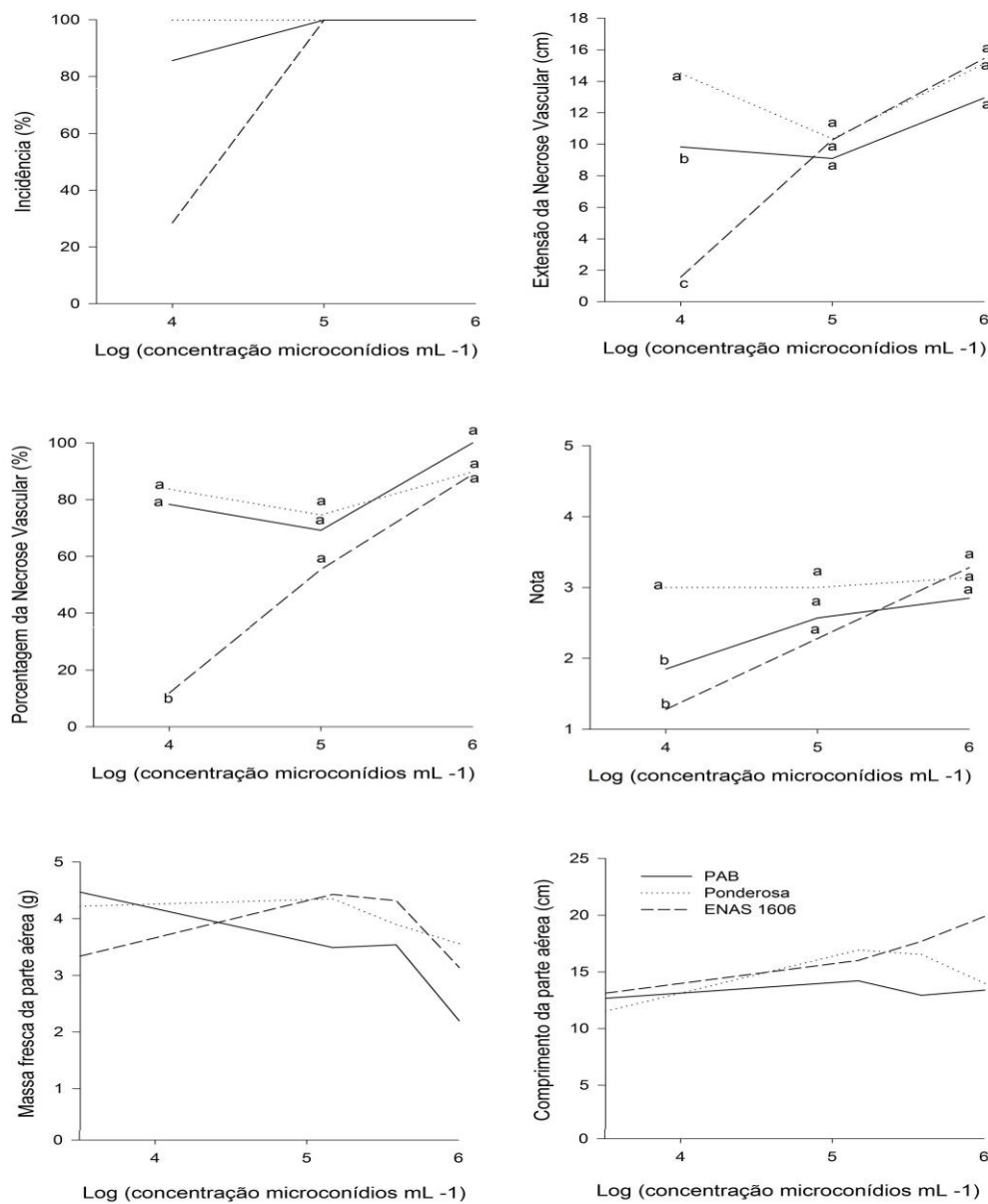
No ensaio com o isolado FUS 1405, da raça 3, observou-se efeito significativo de genótipo sobre a porcentagem de infecção vascular, nota e comprimento das hastes; efeito significativo de concentração de conídios sobre a extensão e porcentagem de infecção vascular e sobre nota de severidade e efeito significativo da interação genótipo x concentração para a nota (Tabela anexo 2). De forma geral, houve também aumento da incidência, da extensão colonizada e da porcentagem de infecção vascular com o aumento da concentração de inóculo. No entanto, também para este isolado somente se conseguiu distinguir as três cultivares quanto à resistência/suscetibilidade quando se utilizou a menor concentração de esporos,  $10^4$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$ . Neste caso, identificou-se a PAB como MR, Ponderosa como SU e o acesso ENAS 1606 como AR. (Figura 6 e Tabela 5)

De forma geral, a resposta das plantas aos isolados MMBF 02/96 e FUS 1405 variou em função da densidade do inóculo. Da mesma forma, Martyn (1983) identificou que a

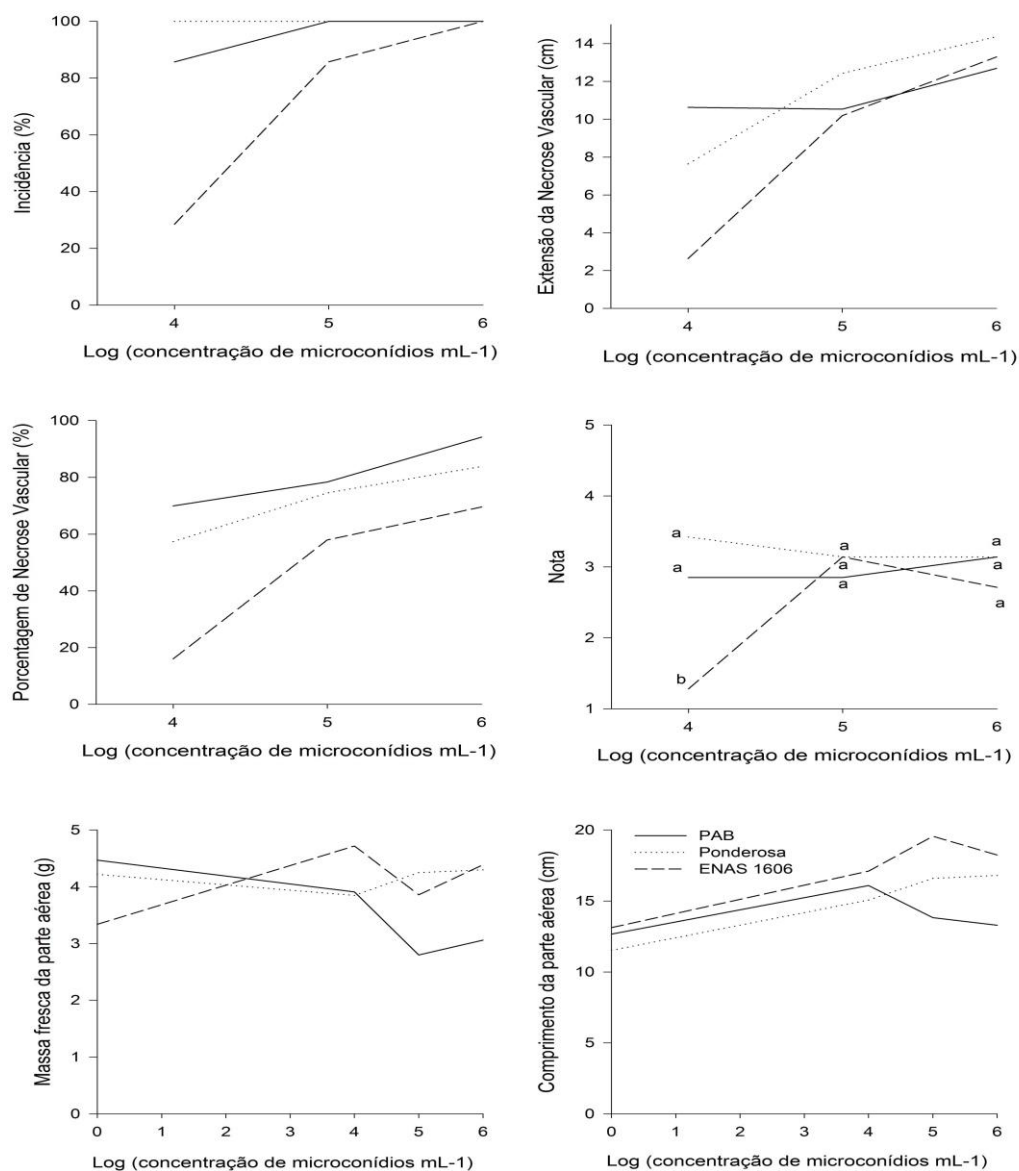


resistência de cultivares de melão foi claramente afetada pelo aumento da concentração de inóculo dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. De forma contrária, Caligiori Gei et al. (2014), em teste de resistência em cebola com diferentes isolados e concentrações de inóculo de *Fusarium* spp., verificaram que os isolados mais virulentos foram agressivos em baixa e alta densidade de inóculo, evidenciando que a concentração não influenciou a sua habilidade intrínseca de infectar as plantas.

A concentração de  $10^6$  microconídios  $\text{ml}^{-1}$  é a mais utilizada em metodologias para identificação de genótipos com resistência completa (SANTOS, 1997). Portanto, para este tipo de resistência, esta elevada concentração é adequada pois evita resultados falso negativos, especialmente quando a virulência do isolado é variável e fortemente dependente da densidade de inóculo. Além disso, pode ocorrer variação na agressividade de isolados devido a fatores externos, como condições edafoclimáticas, e fatores internos, como características genéticas (OLIVEIRA et al., 2014). A concentração de  $10^4$  microconídios.  $\text{mL}^{-1}$  permitiu a obtenção de resultados satisfatórios na ocorrência do processo de infecção e permitiu distinguir a reação dos genótipos, e se caracterizou como uma adequada concentração em testes para avaliação da resistência parcial. No entanto, novos ensaios com valores de concentrações mais baixos devem ser realizados.



**Figura 5.** Extensão da necrose vascular (cm), porcentagem da necrose vascular (%), incidência (%), e severidade expressa em nota, massa fresca e comprimento da parte aérea de três genótipos de tomateiro inoculados com três concentrações de microconídios. mL<sup>-1</sup> ( $1,0 \times 10^4$ ;  $1,0 \times 10^5$  e  $1,0 \times 10^6$ ) do isolado MMBF 02/96 da raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em ensaio em condições de casa de vegetação. Médias entre genótipos seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.



**Figura 6.** Extensão da necrose vascular (cm), porcentagem da necrose vascular (%), incidência (%), e severidade expressa em nota, massa fresca e comprimento da parte aérea de três genótipos de tomateiro inoculados com três concentrações de microconídios.mL<sup>-1</sup> ( $1,0 \times 10^4$ ;  $1,0 \times 10^5$  e  $1,0 \times 10^6$ ) do isolado FUS 1405 da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em ensaio em condições de casa de vegetação. Médias entre genótipos seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**Tabela 5.** Nota e reação segundo Reis (2004) de três genótipos de tomateiro inoculados com três concentrações de microconídios mL<sup>-1</sup> (1,0x10<sup>4</sup>; 1,0x10<sup>5</sup> e 1,0x10<sup>6</sup>) do isolado MMBF 02/96 (raça 1) e FUS 1405 (raça 3) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em ensaio em condições de casa de vegetação.

MMBF 02/96						
Concentração	PAB		Ponderosa		ENAS 1606	
	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação
10 <sup>4</sup>	1,85	AR	3	MR	1,28	AR
10 <sup>5</sup>	2,57	MR	3	MR	2,28	MR
10 <sup>6</sup>	2,85	MR	3,14	SU	3,28	SU
FUS 1405						
Concentração	PAB		Ponderosa		ENAS 1606	
	Nota	Reação	Nota	Reação	Nota	Reação
10 <sup>4</sup>	2,85	MR	3,42	SU	1,28	AR
10 <sup>5</sup>	2,85	MR	3,12	SU	3,14	SU
10 <sup>6</sup>	3,14	SU	3,12	SU	2,71	MR

#### 4.2.2 Metodologia de inoculação

Neste experimento, para os dois isolados utilizados e para os três métodos de inoculação testados, as mudas não apresentaram sintomas externos aos 21 dias após a inoculação, apenas internos como a descoloração vascular e confirmação do diagnóstico após isolamento em meio de cultura BDA.

No ensaio com o isolado MMBF 01/96 (raça 1), observou-se efeito significativo de genótipo, de metodologia de inoculação e da interação entre estes sobre a extensão e porcentagem de tecido com necrose vascular; efeito simples de genótipo e metodologia sobre a nota de severidade e comprimento das hastes (Tabela anexo 3). Para este isolado observaram-se maior intensidade da doença, expressa pela extensão e porcentagem de infecção do sistema vascular das mudas de ENAS 2013 e Ponderosa nas inoculações feitas por meio da imersão das raízes, com e sem corte, na suspensão de conídios. Para o acesso ENAS 1601, não houve diferenças significativas entre os procedimentos quanto à infecção do sistema vascular (Tabela 6).

A inoculação via solo não permitiu distinguir os três genótipos, que foram iguais entre si. Com os procedimentos de imersão das raízes, com e sem ferimento, conseguiu-se discriminar os três genótipos da seguinte forma: maior suscetibilidade em ENAS 2013, seguido de Ponderosa e ENAS 1601. No entanto, quando se considera a escala de notas e classificação de Reis (2004), os genótipos foram classificados como AR (ENAS 2013) e SI (Ponderosa e ENAS 1601) quando inoculados via solo; como AR (ENAS 2013 e Ponderosa) e SI (ENAS 1601), quando inoculados via suspensão sem ferimentos e como AR (ENAS 2013, Ponderosa e ENAS 1601) quando inoculados via suspensão com ferimento prévio das raízes.

Para o isolado da raça 3 de *Fol*, FUS 2903, observou-se efeito significativo da interação entre genótipo e metodologia de inoculação apenas sobre a massa fresca da parte aérea. De forma geral, observaram-se maiores acúmulos de massa fresca nas plantas testemunhas, sem inoculação, seguido das inoculadas por imersão das raízes, com e sem ferimento, e menores valores no procedimento por inoculação no solo. Diferenças entre o acúmulo de massas pelos

plantas dos três genótipos somente foi detectada nos procedimentos de inoculação com imersão das raízes, com e sem ferimento. Nestes dois casos, menor acúmulo foi detectado nas plantas do acesso ENAS 1601. Observou-se também efeito da metodologia de inoculação sobre porcentagem de lesão vascular, com maiores valores no método de inoculação direta no solo, seguido do método de imersão de raízes sem corte e de imersão de raízes com corte. E sobre a severidade, expressa em nota, da mesma forma, os maiores valores foram obtidos nos procedimentos de imersão com corte, seguido de imersão sem corte e inoculação direta no solo (Tabela 6). No entanto, neste ensaio, independente do método de inoculação utilizado, não se conseguiu distinguir diferenças entre os genótipos quanto à reação ao isolado, todos com reação AR (Tabela 8).

Apesar de apresentar reação AR para os três métodos de inoculação, o acesso ENAS 2013 comportou-se como o mais suscetível comparado aos demais quando inoculados com o isolado da raça 1 (MMBF 01/96). Já quando inoculado com o isolado da raça 3 (FUS 2903), comportou-se como o mais resistente em relação aos demais genótipos. No entanto, houve um comportamento diferente deste acesso quando inoculado com o mesmo isolado, FUS 2903, em diferentes ensaios. Este acesso comportou-se de forma mais suscetível no primeiro ensaio, utilizando o método de imersão com corte, no qual apresentou nota de 2,43, reação de MR e 43% de infecção do sistema vascular (Tabela 2). Já neste ensaio apresentou nota de 1,71, reação de AR e 21,31% de infecção (Tabela 7). Esta diferença na virulência do isolado pode estar relacionada com as condições ambientais em que as plantas e o patógeno foram submetidos, sendo estas a temperatura, umidade relativa do ar, pH, presença de nutrientes, entre outros (AGRIOS 2005). Para *Fol* os fatores mais importantes para seu desenvolvimento são temperatura, umidade e pH do solo (ALHUMSAEN, 2012). No caso da temperatura, 28° C seria o ideal para o desenvolvimento do fungo (BAWA, 2016). Estes ensaios foram realizados entre os meses de abril a junho, onde as temperaturas são mais baixas, desfavorecendo portanto o desenvolvimento do fungo e consequentemente interferindo no processo de infecção nas mudas.

De forma geral, na maioria dos casos a nota de severidade da doença nas plantas variaram de 1,0 a 2,0 o que caracteriza reação de AR e SI. A caracterização dos acessos foi dificultada pela intensidade da doença causada provavelmente por condições ambientais desfavoráveis para o desenvolvimento do patógeno, como baixas temperaturas. Além disso, no primeiro ensaio realizado o isolado FUS 2903 comportou-se de forma pouco virulenta, repetindo portanto este comportamento (Tabela 2). Entretanto, sabe-se que a resistência parcial não poder ser avaliada em termos absolutos e sim através de comparações com cultivares resistentes ou suscetíveis, se faz necessário a utilização de métodos de inoculação menos agressivos (RIBEIRO DO VALE, 2001). Segundo Webb et al. (2017), a identificação e quantificação dos níveis de resistência parcial seriam mais facilmente obtidas em ensaios sob condições menos favoráveis ao patógeno, entre eles métodos de inoculação menos agressivos. Logo, métodos menos drásticos como inoculação direta no solo ou imersão de raízes sem corte seriam mais adequados na identificação de genótipos com resistência parcial.

**Tabela 6.** Extensão (cm) e porcentagem (%) da necrose vascular em mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com o isolado da raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (MMBF 01/96), avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019.

Genótipo	Extensão (cm)				Porcentagem (%)			
	Testemunha	Solo	Sem corte	Com corte	Testemunha	Solo	Sem corte	Com corte
ENAS 2013	0,00 Ba	4,14 Ba	12,16 Aa	16,80 Aa	0,00 Ba	20,01 Ba	67,12 Aa	83,55 Aa
Ponderosa	0,00 Ba	0,00 Ba	4,70 Aab	8,38 Ab	0,00 Ba	00,00 Ba	28,57 ABb	51,34 Aab
ENAS 1601	0,00 Aa	0,00 Aa	0,00 Ab	4,14 Ab	0,00 Aa	00,00 Aa	00,00 Ab	23,12 Ab
Média Geral	0,00	1,38	5,62	9,77	0,00	6,67	31,9	52,67

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 7.** Massa fresca da parte aérea (g) em mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com o isolado da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FUS 2903), avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019.

Genótipo	Massa fresca da parte aérea (g)				Média
	Testemunha	Solo	Sem Corte	Com Corte	
ENAS 2013	5,09 Aa	3,33 Ca	4,67 ABa	4,28 Bab	4,3425
Ponderosa	5,03 Aa	3,71 Ca	4,37 ABa	4,47 ABa	4,395
ENAS 1601	4,56 Aa	3,77 Ba	3,61 Bb	3,60 Bb	3,885
Média Geral	4,89	3,6	4,22	4,12	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 8.** Porcentagem da área lesionada e nota segundo Reis (2004) de mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com o isolado da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FUS 2903), avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019.

Inoculação	Porcentagem	Nota
Controle	00,00 c	1,00 c
Solo	21,58 b	1,23 b
Sem corte	27,91 b	1,33 b
Com corte	55,27 a	1,76 a
Média geral	26,19	1,33

**Tabela 9.** Nota, reação conforme Reis et al. (2004) e incidência em mudas de três genótipos de tomateiro inoculados utilizando 3 métodos de inoculação, inoculação direta no solo, imersão das raízes sem corte e imersão das raízes com corte, com um isolado da raça 1 (MMBF 01/96) e um isolado da raça 3 (FUS 2903) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, avaliado aos 21 dias após a inoculação, em ensaio em condições de casa de vegetação. Abril/Maio de 2019.

MMBF 01/96									
Genótipo	Solo			Sem corte			Com corte		
	Nota	Reação	Incidência (%)	Nota	Reação	Incidência (%)	Nota	Reação	Incidência (%)
ENAS 2013	1,43	AR	42,8	1,86	AR	85,7	2,00	AR	100
Ponderosa	1,00	SI	0	1,43	AR	28,5	1,57	AR	57,1
ENAS 1601	1,00	SI	0	1,00	SI	0	1,43	AR	42,8
FUS 2903									
Genótipo	Solo			Sem corte			Com corte		
	Nota	Reação	Incidência (%)	Nota	Reação	Incidência (%)	Nota	Reação	Incidência (%)
ENAS 2013	1,14	AR	1,14	1,14	AR	14,2	1,71	AR	71,4
Ponderosa	1,28	AR	1,28	1,28	AR	28,5	1,57	AR	57,1
ENAS 1601	1,28	AR	1,57	1,57	AR	57,1	2,00	AR	100

## 4.2 Avaliação da resistência parcial até a fase adulta

Na primeira avaliação, realizada aos 30 dias após a inoculação, observou-se infecção vascular em plantas de todos os genótipos, porém sem a presença de sintomas externos como amarelecimento das folhas e murchas. Não se detectaram efeitos significativos dos tratamentos sobre nenhuma das variáveis analisadas (Anexo 4).

Na segunda avaliação, realizada aos 60 dias após a inoculação, observou-se a presença de infecção vascular e de sintomas externos em plantas de todos os acessos. Na análise de variância, detectou-se efeito significativo de genótipo sobre o acúmulo de massa seca e comprimento das hastes e efeito significativo da interação genótipo x isolado sobre a extensão na necrose vascular (Anexo 5).

De forma geral, a maior extensão vascular com necrose e, conseqüentemente maior porcentagem de necrose vascular foi observada nas plantas dos genótipos ENAS 1404, ENAS 2018 e Mascot, estes por sua vez obtiveram notas que variaram de 1,25 a 2,50; 1,25 a 1,50 e 1,0 a 1,50, e classificação como AR a MR, AR e AR, respectivamente.

Na avaliação realizada aos 90 dias após a inoculação observaram-se plantas com infecção vascular e sintomas externos de doença em todos os genótipos, no entanto, o acesso ENAS 2018 foi o que apresentou menor severidade da doença - externa e interna. Na análise de variância, detectou-se efeito de genótipo sobre a extensão da haste colonizada, massa fresca e comprimento da haste e número e massa de frutos; efeito de isolado sobre extensão e porcentagem de sistema vascular necrosado e sobre severidade, expressa em nota, e; efeito da interação genótipo x isolado sobre a extensão da lesão vascular, nota de severidade e altura das hastes (Anexo 6).

As respostas das plantas dos diferentes genótipos quanto à extensão, e conseqüentemente porcentagem de sistema vascular colonizado e nota de severidade variaram bastante em função do isolado, com maiores discrepâncias nas inoculações feitas com o isolado FUS 2903 (Tabela 8). Neste caso, a porcentagem de infecção vascular variou de 0 a 68%, mas as notas variaram apenas de 1 a 2,8, o que equivale a reação SI a MR.

De forma geral, nas avaliações realizadas aos 60 e 90 dias, os genótipos apresentaram variações em seu nível de resistência variando de MR a SI com algumas alterações entre as duas datas (Tabela 7 e 8). E, no período avaliado, até 90 dias, a doença não impactou negativamente o desenvolvimento das plantas.

As respostas dos genótipos quanto ao nível de reação também variaram com o isolado, apesar de não se terem sido identificadas diferenças estatisticamente significativas. A cultivar Mascot, por exemplo, apresentou reação SI, AR e AR aos isolados FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302, respectivamente, tanto aos 60 como 90 dias. A variedade PAB, usada como padrão de suscetibilidade, apresentou reação AR, MR e AR aos 60 dias, e reação AR, MR e SI aos 90 dias, aos isolados FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302, respectivamente. A resposta SI aos 90 dias, indica claramente escape ou falhas no processo/metodologia de inoculação.

A inexistência de sintomas externos nas plantas na avaliação de 30 deve-se à baixa concentração de inóculo,  $5,0 \times 10^5$  microconídios mL<sup>-1</sup>, e ao método de inoculação usado – sem injúrias nas raízes das mudas. De acordo com López-Benítez et al. (2018), para alguns patógenos habitantes do solo, o aumento da quantidade de inóculo do patógeno no solo tende a causar sintomas mais rápidos e mais severos.

De forma geral a resistência parcial dos genótipos, identificada em fase de mudas, permaneceu até a fase adulta. De acordo com Niks et al. (2015), a expressão dos genes de resistência pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento que a planta se encontra.



Porém, as mudas mantiveram o mesmo comportamento que apresentaram na fase de muda na fase adulta.

**Tabela 10.** Extensão, porcentagem da necrose vascular, nota e reação de plantas de 5 genótipos de tomateiro inoculados com 3 isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) 60 dias após a inoculação, em ensaio de vaso sob condições de casa de vegetação. Abril/Junho de 2019.

Necrose Vascular								
Genótipo	Extensão (cm)				Porcentagem (%)			
	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle
ENAS 1404	5,0 Aa	00,0 Ab	16,00Aa	0,0 Aa	4,92 Aa	00,00Ab	20,00Aa	0,0 Aa
ENAS 2013	3,0 Ba	57,6 Aab	18,25 ABa	0,0 Ba	3,53 ABa	43,33 Aab	19,14 ABa	0,0 Ba
ENAS 2018	7,4Aa	00,0 Ab	29,80Aa	0,0 Aa	0,00 Ba	00,00 Bb	47,79 Aa	0,0 Ba
PAB	9,5 Ba	67,2 Aa	03,00 Ba	0,0 Ba	12,32 Ba	67,79 Aa	07,50 Ba	0,0 Ba
Mascot	0,0 Aa	18,8 Abc	04,00Aa	0,0 Aa	00,00Aa	12,27 Ab	09,77 Aa	0,0 Aa
Média geral	3,5	28,72	14,21	0	4,15	24,67	20,84	0
Genótipo	Nota				Reação			
	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle
ENAS 1404	1,4 Aa	1,0 Ab	1,2 Aa	1,0 Aa	AR	SI	AR	-
ENAS 2013	1,8 ABa	2,2 Aab	2,25 Aa	1,0 Ba	AR	MR	MR	-
ENAS 2018	1,0 Aa	1,0 Ab	1,8 Aa	1,0 Aa	SI	SI	AR	-
PAB	2,0 ABa	2,8 Aa	1,2 Ba	1,0 Ba	AR	MR	AR	-
Mascot	1,0 Aa	1,6 Aab	1,4 Aa	1,0 Aa	SI	AR	AR	-
Média geral	1,44	1,72	1,57	1				

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 11.** Extensão da necrose vascular, comprimento da parte aérea, nota e reação de plantas de 5 genótipos de tomateiro inoculados com 3 isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FUS 1405, FUS 2903 e FUS 1302) 90 dias após a inoculação, em ensaio de vaso sob condições de casa de vegetação. Abril/Julho de 2019.

Genótipo	Extensão da necrose vascular (cm)				Comprimento da parte aérea (cm)			
	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle
ENAS 1404	10,00 Ba	29,00 ABab	63,5 Aa	0,00 Ba	128,50 Aab	182,00 Aa	168,50 Aa	159,00 Aa
ENAS 2013	1,25 Aa	20,25 Ab	13,00 Ab	0,00 Aa	181,25 Aa	135,00 Aab	139,00 Aab	118,50 Aab
ENAS 2018	9,50 Aa	01,75 Ab	22,75 Aab	0,00 Aa	70,00 Ab	61,50 Ab	71,75 Ab	63,75 Ab
PAB	4,25 Ba	68,75 Aa	00,00 Bb	0,00 Ba	137,75 Aab	165,75 Aa	123,00 Aab	183,00 Aa
Mascot	0,00 Aa	04,00 Ab	03,50 Ab	0,00 Aa	191,50 ABa	180,00 ABa	197,50 Aa	125,25 Bab
Média geral	5	24,75	20,55	0	141,8	144,85	139,95	129,9

Genótipo	Nota				Reação			
	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle	FUS 1405	FUS 2903	FUS 1302	Controle
ENAS 1404	1,25 Ba	1,50 ABa	2,50 Aa	1,00 Ba	AR	AR	MR	SI
ENAS 2013	1,25 Ba	2,50 Aa	1,75 ABab	1,00 Ba	AR	MR	AR	SI
ENAS 2018	1,50 Aa	1,25 Aa	1,50 Aab	1,00 Aa	AR	AR	AR	SI
PAB	2,00 ABa	2,50 Aa	1,00 Bb	1,00 Ba	AR	MR	SI	SI
Mascot	1,00 Aa	1,50 Aa	1,50 Aab	1,00 Aa	SI	AR	AR	SI
Média geral	1,4	1,85	1,65	1,00 a				

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, minúscula na coluna e maiúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 5. CONCLUSÕES

1. O acesso ENAS 2013 foi o único que apresentou reação MR a todos os três isolados da raça 3; os demais acessos apresentaram reação SU a pelo menos um dos isolados. Maior nível de resistência parcial foi observada em plantas da cultivar Mascot.
2. Inoculação por meio de adição direta da suspensão de inóculo no solo foi pouco eficiente e resultou em baixa incidência da doença nas mudas; a inoculação por imersão das raízes intactas na suspensão de conídios também resultou em baixa incidência da doença e ajustes devem ser feitos para se viabilizar o seu uso.
3. Nos testes com diferentes concentrações de inóculo, discriminação entre os três genótipos somente foi possível com a menor concentração  $1,0 \times 10^4$  microconídios  $\text{mL}^{-1}$ ; nas concentrações de  $1,0 \times 10^5$  e  $1,0 \times 10^6$  microconídios  $\text{mL}^{-1}$ , garantiu-se 100% de infecção das mudas, mas não permitiu a discriminação dos genótipos quanto à resistência.
4. A avaliação até a fase adulta foi comprometida pela baixa severidade da doença em todos os genótipos, inclusive nos genótipos usados como padrão de suscetibilidade, PAB.
5. As baixas temperaturas durante a realização dos ensaios afetou os resultados e uso de ambiente com condições controladas de temperatura devem ser considerados.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. Plants diseases caused by fungi: vascular wilts caused by ascomycetes and deuteromycetes (mitosporic fungi). **Plant pathology**. Cap. 11, p. 523-526, 922 p., 2005.
- AJILOGBA, C.F.; BABALOLA, O.O. Integrated management strategies for tomato *Fusarium* wilt. **Biocontrol science**, v. 18, n.3, p. 117-127, 2013.
- AKRAM, W.; ANJUM, T.; AHMAD, A. Basal susceptibility of tomato varieties against different isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Int. J. Agric. Biol.**, v. 16, p. 2014.
- ALEXANDER, L. J.; TUCKER, C. M. Physiological specialization in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Journal of Agricultural Research**, v.70, p. 303-313, 1945.
- ALHUSSAEN, K.M. Effect of soil acidity on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Fusarium oxysporum* on tomato plants. **Journal of Biology Science**, 12, 416, 2012.
- ALVARENGA, M. A. R. Tomate: Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: Editora UFLA, 455 p., 2013.
- AMINI, J. Physiological Race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Kurdistan Province of Iran and Reaction of Some Tomato Cultivars to Race 1 of Pathogen. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, p. 172-178, 2010.
- ANDRADE, D. E. G. T.; ASSIS, T. C.; ARAÚJO, I. B.; FERRAZ, E.; MENEZES, M. Variabilidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e resistência de tomateiro à murcha-de-fusário. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 2, p. 172-190, 2005.
- ARRUDA, S. C. Murcha de *Fusarium* do tomateiro. **Biológico**, São Paulo, v. 7, n. 7, p. 122-200, 1941.
- BAI, Y.; LINDHOUT, P. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future?. **Annals of Botany**, v.100, n.5, p.1085-1094, 2007.
- BARBOZA, E.A.; CABRAL, C.S; GONÇALVES, A.M.; REIS, A.; FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 infecting tomatoes in Northeast Brazil, **Plant disease**, v. 97, n. 3, p. 1, 2.
- BAWA, I. Management strategies of *Fusarium* wilt disease of tomato incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.): A review. **International Journal of Advanced Academic Research**, 2016, 5; 32- 42.

BECKMAN, C.H. **The Nature of Wilt Diseases of Plants**. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, USA, 1987.

BIJU, V. C.; FOKKENS, L.; HOUTERMAN, P. M.; REP, M.; CORNELISSEN, B. J. Multiple evolutionary trajectories have led to the emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 4, p. 1-20, 2017.

BISHOP, C.D. e COOPER, R.M. Anultrastructural study of vascular colonization in three vascular wilt diseases I. Colonization of susceptible cultivars. **Physiol. Plant Pathol.** V. 23, p. 323-343, 1983b.

BOIX-RUÍZ, A.; GÁLVEZ-PATÓN, L.; DE CARA-GARCÍA, M.; PALMERO-LLAMAS, D.; CAMACHO-FERRE, F.; TELLO-MARQUINA, J.C. Comparison of analytical techniques used to identify tomato-pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 4, p. 471-483, 2015.

BOHN, G. W.; TUCKER C. M. Immunity to *Fusarium* wilt in the tomato. **Science**, v. 89, n. 2322, p. 603-604, 1939.

BONANOMI G., ANTIGNANI V., PANE C., SCALA F. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. **J. Plant Pathol.** 89, 311–324, 2007.

BOOTH, C. **The Genus *Fusarium***. Kew: England. Commonwealth Mycological Institute, 1971. 237p.

BORRERO C., TRILLAS M. I., ORDOVAS J., TELLO J. C., AVILES M. Predictive factors for the suppression of *Fusarium* wilt of tomato in plant growth media. **Phytopathol.** 94, 1094–1101, 2004.

CALIGIORE GEI, P. F., VALDEZ, J. G., PICCOLO, R. J., & GALMARINI, C. R. Influence of *Fusarium* spp. isolate and inoculum density on resistance screening tests in onion. **Tropical Plant Pathology**, 39(1), pp.19-27, 2014.

CAMARGO FILHO, WP; CAMARGO, FP.A Quick review of the production and commercialization of the main vegetables in Brazil and the world from 1970 to 2015. **Horticultura Brasileira**, v. 35, p. 160-166, 2017.

CARRIJO, O. A.; MAKISHIMA, N. (Ed.). Cultivo protegido do tomateiro. Brasília: Embrapa Hortalicas, 1998. 18p. (Embrapa Hortalicas. Circular Técnica, 13). Disponível em: <file:///C:/Users/adm/Downloads/digitalizar0057%20(4).pdf>. Acesso em: abril de 2019.

CARVALHO, A.O. **Influência da fonte de nitrogênio sobre o pH rizosfera e sobre a colonização de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder e Hansen**. 2003. 79p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

CANTÚ, R. R.; REBELO, J. A.; MILANESI, P. M.; GOTO, R. Reaction and resistance of tomato rootstock to *Fusarium* wilt. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1155-1158, 2014.

CHOPADA, G.B., SINGH, P., e KORAT, C. Pathogenic variation among *Fusarium*

*oxysporum f. sp. lycopersici* isolates and varietal screening of tomato against wilt under South Gujarat, India. **The Bioscan**, 9(1), p. 351-354, 2014.

DESLANDES, J. A. Doenças do tomateiro no Nordeste. **Boletim da Sociedade Brasileira de Agronomia**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 4, p. 442–453, 1940.

DI PIETRO, A.; MADRID, M.P.; CARACUEL, Z.; DELGADO-JARANA, J.; RONCERO, M.I.G. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus, **Mol. Plant Pathol.**, v. 4, p. 315-326, 2003.

DINGHRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. Long-Term Storage of plant pathogens. In: **Basic Plant Pathology Methods**. USA: Lewis Publishers. 2nd. Edition, p.61-66, 2000.

EMATER-RIO. **Relatório por culturas do sistema ASPA/AGROGEO – ano 2015 Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://www.emater.rj.gov.br/images/cul2016.htm>. Acessado em 15 de setembro de 2017.

FAOSTAT - FAO Statistics Division. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>. Acessado em 15 de julho de 2018.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3º ed. rev. E ampl. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008.

FLOR, H.H. The complementary genic systems in flax and flax rust. *Advances in Genetics* 8:29-54. Academic Press, New York. 1956.

FONTES, P.C.R. e SILVA, D.J.H. **Produção de tomate de mesa**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil. 2002. 195 p.

GONÇALVES, A.D.M.; AGUIAR, F.M.; LOPES, C.A.; FONSECA, M.E.D.N.; BOITEUX, L.S.; COSTA, H.; REIS, A. Primeiro registro de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* raça 3 no Estado de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 46.; Reunião Brasileira de Controle Biológico, 11., 2013, **Anais**. Ouro Preto: UFV, 2013.

GONZALEZ-CENDALES, Y.; CATANZARITI, A. M. BAKER, B.; MCGRATH, D. J.; JONES, D. A. Identification of *I-7* expands the repertoire of genes for resistance to *Fusarium* wilt in tomato to three resistance gene classes. **Molecular Plant Pathology**, v. 17, n. 3, p. 448-463, 2016.

GRATTIDGE, R.; O'BRIEN, R. G. Occurrence of a 3rd Race of *Fusarium*-Wilt of Tomatoes in Queensland. *Plant Disease*, v. 66, n. 2, p. 165-166, 1982.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticasnovoportaleconomicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producaoagricola.html?=&t=resultados>. Acesso em: 23 de Março de 2019.

HEIL, M.; BALDWIN, I. T. Fitness costs of induced resistance – the emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**. p. 61–67, 2002.

INDEX FUNGORUM, 2011. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/>>. Acesso em: 14 de Janeiro de 2018.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. São Paulo. Agronômica Ceres, v. 2, n. 4, p. 607-626, 2005.

LIEVENS, B.; HOUTERMAN, P. M.; REP, M. Effector gene screening allows unambiguous identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races and discrimination from other *formae speciales*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 300, n. 2, p. 201-215, 2009.

LIM, G. T. T.; WANG, G. P.; HEMMING, M. N.; BASUKI, S.; MCGRATH, D. J., CARROLL, B. J.; JONES, D. A. Mapping the *I-3* gene for resistance to *Fusarium* wilt in tomato: application of an *I-3* marker in tomato improvement and progress towards the cloning of *I-3*. **Australasian Plant Pathology**, v. 35, n. 6, p. 671-680, 2006.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. & VALLE, L. A. C. **Controle genético de doenças radiculares**. In: Michereff, S. J.; Andrade, D. E. G. T. & Menezes, M. (Eds.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: UFRPE Imprensa Universitária, 2005. p. 247-271.

LOPEZ-BENITEZ, A., RODRIGUEZ-HERRERA, S. A., GAYOSSO-BARRAGÁN, O., ALCALA-RICO, J. S., & VIZCARRA-LOPEZ. Inoculation methods and conidial densities of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in tomato. **Australian Journal of Crop Science**, 12(8), 1322, 2018.

LUGO ZC; SANABRIA NH., 2001. Características culturales y patogénicas e naislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* procedentes de plantaciones comerciales de tomate. **Agronomia Tropical**, 51: 519-530.

MA, L. J.; GEISER, D. M.; PROCTOR, R. H.; ROONEY, A. P.; O'DONNELL, K.; TRAIL, F.; GARDINER, D. M.; MANNERS, J. M.; KAZAN, K. *Fusarium* pathogenomics. **Annual Review of Microbiology**, v. 67, p. 399-416, 2013.

MANDHARE, V. K. e PATIL, P. L. Varietal screening and efficacy of fungicides against *Fusarium* wilt of Brinjal. **J. Maharashtra Agri. Uni**, v.18(1), p. 34-36, 1993.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3.ed London: Elsevier, 2012. 643p.

MARTYN, R. D. Effects of inoculum concentration on the apparent resistance of watermelons to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Plant Dis.**, v. 67, p. 493-495, 1983.

MCGOVERN, R.J. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. **Crop Pathology Journal**, v.8, n.2, p.68-73, 2015.

MUNDT, C. C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests.



**Infection, Genetics and Evolution**, v. 27, p. 446-455, 2014.

NIKS, R. E., QI, X. Q., MARCEL, T. C. Quantitative resistance to biotrophic filamentous plant pathogens: concepts, misconceptions and mechanisms,” in Annual Review of Phytopathology ed. Van Alfen N. K., editor. (Palo Alto, CA: Annual Reviews; ) 445–470, 2015.

OLIVEIRA, Cristiana Maia. **Murcha-de-fusário do tomateiro, causada por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, em Nova Friburgo, RJ: raças, resistência genética e manejo.** 2017. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

OLIVEIRA, T. A. S. D., BLUM, L. E. B., DUARTE, E. A. A., TAVARES, G. M., & LUZ, E. D. M. N. Epidemiological factors of *Phytophthora palmivora* affecting the severity of postharvest papaya fruit rot. **Summa Phytopathologica**, 40(3), p. 256-263, 2014.

PARK, M. S., JANG, K. S., CHOI, Y. H., KIM, J. C. e CHOI, G. J. Simple Mass-screening methods for Resistance of tomato to *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. **Korean J. Hortic. Sci. Technol.**, V. 31, p. 110-116, 2013.

PERALTA, I.E.; SPOONER, D.M. History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae). In: RAZDAN, M.K.; MATTOO, A.K.; Genetic Improvement of Solananaceous crops: tomato, v.2, p. 1-25, 2006.

PEREIRA, R.B. e PINHEIRO, J.B. Murcha-de-fusário em tomateiro. **Embrapa, Comunicado técnico**105, 2014. 8p.

REETZ, E. R. **Anuário brasileiro de hortaliças**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, p.88, 2014.

REIS, A.; BOITEUX, L. S.; COSTA, H.; LOPES, C. A. First report of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* race 3 on tomato in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 4, p. 426-428, 2005.

REIS, A.; BOITEUX, L.S. Outbreak of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* race 3 in commercial fresh-market tomato fields in Rio de Janeiro State, Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 451-454, 2007.

REIS, A.; GIORDANO, L.B.; LOPES, C.A; BOITEUX, L.S.; Novel sources of multiple resistance to three races of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* in Lycopersicon germplasm. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.4, p.495-502, 2004.

RIBEIRO DO VALE, F.X., PARLEVLIT, J.E. & ZAMBOLIM, L. Concepts in plant disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, 26:577- 589. 2001.

ROCHA, F.Y.O.; OLIVEIRA, C.M.; SILVA, P.R.A.; MELO, L.H.V.; CARMO, M.G.F.C.; BALDANI, J.I. Taxonomical and functional characterization of Bacillus strains isolated from tomato plants and their biocontrol activity against races 1, 2 and 3 of *Fusariumoxysporum f. sp. lycopersici*. **Applied Soil Ecology**, v.120, p.8-19, 2017.

RODRIGUEZ-GALVEZ, E.; MENDGEN, Kurt. The infection process of *Fusarium oxysporum* in cotton root tips. **Protoplasma**, v. 189, n. 1-2, p. 61-72, 1995.

ROJAS, C. M.; SENTHIL-KUMAR, M.; TZIN, V.; MYSORE, K. S. Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense. *Frontiers in Plant Science*, v. 5, n. 17, p. 1-12, 2014.

SALIM, H.A., SIMON, S. e LAL, A.A. Integrated diseases management (IDM) against tomato (*Lycopersicon esculentum* L) fusarium wilt. **Journal of Environmental and Agricultural Sciences**, v. 11, p. 29-34, 2017.

SANTOS JÚNIOR, W.N.; CARVALHO, M.R.M.; CABRAL, C.S.; REIS, A. Seleção de híbridos e acessos de tomate para resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* raça 3. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. Embrapa Hortaliças, p.19, 2009.

SANTOS, J.R.M. Methodology for screening tomato for Fusarium wilt, Verticillium wilt, grayleaf spot, early blight, and Septoria leaf spot. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PROCESSING TOMATO, 1.; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL TOMATO DISEASES, 1., 1996, Recife. Proceedings. Alexandria: ASHS Press: IPA, 1997. p. 164-166.

SCHEIDELER, M., SCHLAICH, N.L., FELLEBERG, K., BEISSBARTH, T., HAUSER, N.C., VINGRON, M., et al. Monitoring the switch from housekeeping to pathogen defense metabolism in Arabidopsis thaliana using cDNA arrays. **Journal of Biolog. Chem.** 277: 10555–10561, 2002.

SOUZA, L.T.; MICHEREFF, S.J.; LARANJEIRA, D.; ANDRADE, .DE.G.T.; FERRAZ, E.; LIMA, G.S.A.; REIS, A. Reação de genótipos de tomateiro às raças 2 e 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 102-106, 2010.

TAKKEN, F.; REP, M. The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. **Molecular Plant Pathology**, v.11, n.2, p.309-314, 2010.

TECNOSEED. **TSV 770 CROMO**. Disponível em: <http://www.tecnoseed.com.br/produto/ver/395/tomate-tomate-tsv-770-cromo>. Acessado em 29 de dezembro de 2017.

THANGAVELU, R., PALANISWANI, A., VELAZHAHAN, R. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing Fusarium wilt of banana. **Agric. Ecosyst. Environment**, v. 103, p. 259-263, 2003.

TOKESHI, H.; CARVALHO, P. C. T. Doenças do tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill. In: Manual de fitopatologia. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1980.

VERMA, N. P., KAUR, I., MASHI, H., SINGH, A. K e SINGLA, A. Efficacy of *Trichoderma* in controlling Fusarium wilt in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Research in Environment and Life Sciences**, v. 10, 7, p. 639-639, 2017.

WALKER, J.C. **Fusarium Wilt of Tomato**. Monogr. 6. APS Press, 1971, St. Paul, MN. USA.

WEBB, K.M.; DELGROSSO, S. J.; WEST, M.S.; FREEMAN, C.; BRENNER, T. Influence of environment, crop age and cultivar on the development and severity of Fusarium yellows in field-grown sugar beet. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 39, n.1, 37-47, 2017.

ZAMBOLIM, L., JESUS JR., W.C., RODRIGUES, F.A.(Eds.). **O essencial da Fitopatologia**: epidemiologia de doenças de plantas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p .99-165, 2014.

## 7. ANEXOS

**Tabela anexo 1.** Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo, isolado e da interação entre genótipo e isolado em teste com três isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em condições de casa-de-vegetação. Mai/Jun de 2018.

Fonte de Variação	G.L	Quadrado Médio				
		Necrose Vascular			Parte Aérea	
		Extensão*	Porcentagem*	Nota	Massa Fresca	Comprimento
Genótipo (G)	14	6,313*	57,70*	6,093*	6,47*	260,10*
Isolado (I)	3	57,347*	764,09*	80,043*	127,88*	2165,52*
G * I	42	1,486*	11,62*	1,802*	2,07*	34,01*
Resíduo	285	0,821	6,03*	0,719	0,82	16,65
CV%		36,48	43,15	34,15	26,83	21,98

\* significativo a 0,05 pelo teste F; \*Dados transformados  $\sqrt{x+1}$ .

**Tabela anexo 2.** Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo, concentração de esporos e da interação entre genótipo e concentração de esporos em teste de inoculação com um isolado da raça 1 (MMBF 02/96) e um isolado da raça 3 (FUS 1405) de *Fusarium oxysporum* f. *sp.lycopersici* em condições de casa-de-vegetação. Nov/Dez de 2018.

Quadrado Médio						
MMBF 02/96 (Raça 1)						
Fonte de Variação	G.L	Necrose Vascular			Parte Aérea	
		Extensão*	Porcentagem*	Nota	Massa Fresca	Comprimento
Genótipo (G)	2	2,85*	37,84*	3,01*	3,75	79,42*
Concentração (C)	3	18,45*	164,45*	10,46*	5,45*	27,11*
G * C	6	2,76*	18,03*	1,18*	1,24	15,99
Resíduo	60	0,39	3,29	0,47	1,37	7,51
CV%		20,62	25,1	28,89	31,66	17,99
FUS 1405 (Raça 3)						
Genótipo (G)	2	1,93	34,73*	3,50*	4,39	73,27*
Concentração (C)	3	17,91*	151,82*	10,23*	1,26	40,27
G * C	6	1,11	7,44	1,91*	1,78	13,03
Resíduo	60	0,78	6,06	0,59	1,55	10,40
CV%		30,08	36,09	29,39	31,93	20,4

\* significativo a 0,05 pelo teste F; \*Dados transformados  $\sqrt{x+1}$ .

**Tabela anexo 3.** Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função da metodologia de inoculação e da interação entre genótipo e metodologia de inoculação em teste com três genótipos de tomateiro inoculados com um isolado da raça 1 MMBF 01/96 (raça 1) e um isolado da raça 3 (FUS 2903) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersiciem* condições de casa-de-vegetação. Abril/Maio de 2019.

Quadrado Médio						
MMBF 01/96 (raça 1)						
Fonte de Variação	G.L	Necrose Vascular			Parte Aérea	
		Extensão*	Porcentagem*	Nota	Massa Fresca	Comprimento
Genótipo (G)	2	15,15*	100,65*	1,58*	2,65*	160,87*
Inoculação (I)	3	15,62*	114,12*	1,85*	1,56	32,43*
G * I	6	2,53*	17,18*	0,25	1,29	6,27
Resíduo	72	0,83	6,29	0,13	0,61	5,2
CV%		49,64	76,63	28,05	16,2	14,3
FUS 2903 (raça 3)						
Genótipo (G)	2	149,30*	28,15	0,37	2,18*	2,72
Inoculação (I)	3	3,13	106,42*	2,13*	5,90*	11,33*
G * I	6	7,51	15,57	0,6	0,78*	1,7
Resíduo	72	5,14	10,49	0,15	0,3	0,97
CV (%)		15,64	91,19	29,12	13,12	55,42

\* significativo a 0,05 pelo teste F; \*Dados transformados  $\sqrt{x+1}$ .

**Tabela anexo 4.** Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo e isolado em experimento com três isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* avaliados 30 dias após inoculação em condições de casa-de-vegetação. Abril/Maio de 2019.

Quadrado médio									
Fonte de Variação	GL	Infecção			Nota	Parte aérea			
		Comprimento*	Porcentagem*			Massa fresca folha	Massa fresca haste	Massa seca folha	Comprimento
Genótipo (G)	4	0,45	0,94	0,02	328,99	169,42	5,02	2205,69*	
Isolado (I)	3	3,3	6,93	0,22	95,19	159,17	1,01	759,17*	
G x I	12	0,38	0,93	0,02	205	73,15	1,43	155,91	
Resíduo	78	1,22	2,78	0,08	329,51	136,56	3,05	228,09	
CV%		84,33	113,9	26,38	45,11	49,37	43,15	29,21	

**Tabela anexo 5.** Resumo da análise de variância relativo aos dados de severidade da murcha-de-fusário e crescimento das plantas de tomateiro em função de genótipo, isolado e da interação entre genótipo e isolado em experimento com três isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, avaliados 60 dias após inoculação em condições de casa-de-vegetação. Abril/Jul de 2019.

Quadrado médio									
Fonte de Variação	GL	Necrose Vascular			Nota	Parte Aérea			
		Extensão*	Porcentagem*			Massa Fresca Folha	Massa Fresca Haste	Massa Seca Folha	Comprimento
Genótipo (G)	4	10,13	10,13	1,79	2241,8	1490,54	68,74*	10096,0*	
Isolado (I)	3	47,12	45,40	2,69	1572,01	483,84	42,86	852,6	
G x I	12	11,98*	12,74	0,91	588,27	480,93	15,01	1278,0	
Resíduo	78	4,75	05,30	0,41	975,10	648,41	16,01	882,5	
CV%		90	92,52	44,69	47,53	50,67	44,4	30,72	

\* significativo a 0,05 pelo teste F; \*Dados transformados  $\sqrt{x+1}$ .

**Tabela anexo 6.** Análise de variância para efeito de genótipo, isolado e da interação entre genótipo e isolado em experimento com 5 genótipos de tomateiro inoculados com 3 isolados da raça 3 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* avaliados 90 dias após inoculação em condições de casa-de-vegetação. Abril/Jul de 2019.

Quadrado médio										
Fonte de Variação	GL	Necrose Vascular			Nota	Parte aérea			Frutos	
		Extensão*	Porcentagem*			Massa fresca folha	Massa seca folha	Massa fresca haste	Comprimento	Número
Genótipo (G)	4	11,27*	8,66	0,52	351,52	8,8	3187,9*	28146,8*	2110,36*	95582*
Isolado (I)	3	34,88*	26,11*	2,68*	228,1	3,55	303,6	825,8	84,55	21033
G x I	12	11,95*	8,13	0,9*	1015,51	28,32	923,9	2879,5*	80,81	13280
Resíduo	60	4,62	4,55	0,41	1114,59	26,86	685,1	1487,8	43,56	11519
CV%		84,7	89,5	43,76	47,16	51,72	36,48	27,72	41,62	69,9

\* significativo a 0,05 pelo teste F; \*Dados transformados  $\sqrt{x+1}$ .