

Marcello Arrais Lima

Phytophthora infestans: Sobrevivência em restos culturais,
hospedeiros alternativos e dinâmica temporal de esporângios no ar

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

L732p
2005

Lima, Marcello Arrais, 1976-

Phytophthora infestans: sobrevivência em restos culturais, hospedeiros alternativos e dinâmica temporal de esporângios no ar. / Marcello Arrais Lima. – Viçosa: UFV, 2005.

iii, 49f. : il. ; 29cm.

Orientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 44-49.

1. Requeima do tomate – Epidemiologia. 2. Relação hospedeiro-parasito. 3. *Phytophthora infestans*. 4. Tomate - Doenças e pragas. 5. Batata - Doenças e pragas. 6. Esporângios. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 632.45

Marcello Arrais Lima

Phytophthora infestans: Sobrevivência em restos culturais,
hospedeiros alternativos e dinâmica temporal de esporângios no ar

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
para obtenção do título de “*Magister Scientiae*”.

APROVADA: 29 de março de 2005

Prof. Luiz Antonio Maffia
(Conselheiro)

Prof. Hudson Teixeira

Prof. Robert Weingart Barreto
(Conselheiro)

Dr. Trazilbo José de Paula Junior

Prof. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e saúde.

À minha namorada Gisele Bittencourt de Sousa Silva pela compreensão, carinho e por acreditar em mim.

Aos meus queridos pais José e Sara pela vida e constante presença, apoio e carinho.

As minhas irmãs Fernanda e Carolina pelo apoio e carinho e estarem sempre presentes.

A todos os outros membros de minha família que sempre torceram por mim.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do mestrado e aos seus professores. Em especial, ao Prof. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti pela orientação, amizade e ensinamentos durante essa etapa da minha formação. Ao Prof. Luiz Antonio Maffia pelos conselhos e determinante apoio na redação deste trabalho. Ao Prof. Robert Weingart Barreto pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho na Clínica de Doença de Plantas da UFV.

A todos os funcionários do viveiro de café em especial ao Mário e família, Paulo do laboratório de planta daninha, Marcos Rogério, Cecília, Dora, Brás, pela amizade e por facilitarem meu trabalho.

Aos colegas de laboratório Nelson, André, Dulcélio, Diógenes, Gustavo, Luciano e todos os demais pelo convívio e ajuda nas atividades e pelo companheirismo.

Aos colegas de turma Antônio, Idelmar, Márcia Regina pela amizade e ajuda em todos os momentos.

Aos amigos Jader, Eider, Davi, Denise pelo apoio e incentivo.

BIOGRAFIA

MARCELLO ARRAIS LIMA, filho de José Alderico Lima e Sara de Sousa Arrais, nasceu em São Paulo – SP no dia 17 de Agosto de 1976.

Em 1997, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, na cidade de Viçosa – MG, onde se graduou em setembro de 2002.

Em março de 2003, iniciou o curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa na cidade de Viçosa - MG.

CONTEÚDO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	04
2. MATERIAL E MÉTODOS	07
2.1. Sobrevivência de <i>Phytophthora infestans</i> em restos culturais de tomate	07
2.1.1. Preparo das amostras	07
2.1.2. Sobrevivência de <i>Phytophthora infestans</i> em casa de vegetação	07
2.1.2.1. Tratamentos e avaliação	08
2.1.2.2. Avaliação da sobrevivência pela observação direta	09
2.1.2.3. Avaliação da sobrevivência com bioensaio	09
2.1.2.4. Registro de variáveis climáticas	10
2.1.2.5. Delineamento experimental e análise estatística	10
2.1.3. Sobrevivência de <i>Phytophthora infestans</i> em condições de campo	10
2.1.3.1. Tratamentos e avaliação	11
2.1.3.2. Registro de variáveis climáticas	11
2.2. Hospedeiros alternativos de <i>Phytophthora infestans</i>	12
2.2.1. Isolados e preparo de inóculo	12
2.2.2. Avaliação	14
2.3. Dinâmica temporal do inóculo de <i>Phytophthora infestans</i> no ar	14
2.3.1. Monitoramento com armadilha Rotorod	15
2.3.2. Monitoramento com armadilha Burkard	15
2.3.3. Monitoramento com plantas armadilhas	15
2.3.4. Registro de variáveis climáticas	16
2.3.5. Análise estatística	16
3. RESULTADOS	17
3.1. Sobrevivência de <i>Phytophthora infestans</i> em casa de vegetação	17
3.2. Sobrevivência de <i>Phytophthora infestans</i> em condições de campo	18
3.3. Hospedeiros alternativos de <i>Phytophthora infestans</i>	27
3.4. Dinâmica temporal do inóculo de <i>Phytophthora infestans</i> no ar	30
4. DISCUSSÃO	37
5. CONCLUSÕES	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

RESUMO

LIMA, Marcello Arrais. M.S., Universidade Federal de Viçosa, março 2005. ***Phytophthora infestans*: Sobrevivência em restos culturais, hospedeiros alternativos e dinâmica temporal de esporângios no ar.** Orientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti. Conselheiros: Luiz Antonio Maffia e Robert Weingart Barreto.

A requeima, causada por *Phytophthora infestans*, é uma doença destrutiva da batateira e do tomateiro. Há poucas informações quanto a potenciais fontes de inóculo primário do patógeno no Brasil. Os objetivos deste trabalho foram: determinar o tempo de sobrevivência do patógeno em hastes, folíolos e frutos de tomateiro em solo; verificar a especificidade de *P. infestans* por meio de teste centrífugo-filogenético com a inclusão de espécies nativas do Brasil e estudar a dinâmica temporal do inóculo de *P. infestans* no ar. Avaliou-se a sobrevivência em restos culturais de tomateiro, tanto em casa de vegetação como no campo. A sobrevivência do patógeno em restos culturais foi inferior a 100 e 35 dias em casa de vegetação e no campo, respectivamente. Em casa de vegetação, a quantidade de estruturas do patógeno visualizadas em microscópio estereoscópico foi maior em tratamentos mantidos em solo seco, que aqueles mantidos em solo úmido. Dois isolados de *P. infestans*, da linhagem clonal US-1, obtidos de tomateiro, e dois de BR-1, obtidos de batateira, foram inoculados em plantas de 43 espécies. Além das plantas de batata e tomate, apenas plantas de *Petunia hybrida* e *Nicotiana benthamiana* foram suscetíveis ao patógeno. A ocorrência de esporângios de *P. infestans* foi monitorada em condições de campo com armadilhas Rotorod, Burkard e plantas de tomate e batata. Esporângios foram observados ao longo de todo o ano de 2004 e início de 2005. A captura de esporângios de *P. infestans* realizada pela Burkard foi maior no período das 6:00 às 18:00 h. Conclui-se que o inóculo advindo do ar é mais importante para o início de epidemias de requeima, que aquele em restos de cultura.

ABSTRACT

LIMA, Marcello Arrais. M.S., Universidade Federal de Viçosa, march 2005. ***Phytophthora infestans* inoculum dynamics: survival on crop debris, alternative hosts, and sporangia fluctuation.** Adviser: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti. Committee members: Luiz Antonio Maffia and Robert Weingart Barreto.

Tomato and potato late blight, caused by *Phytophthora infestans*, is one of the most important diseases of these crops in Brazil. Despite its importance, little is known about inoculum dynamics in tropical/subtropical areas, particularly in Brazil. The objectives of this study were: to determine survival period of *P. infestans* on stems, leaflets, and tomato fruits buried or not in soil; to assess the specificity of *P. infestans* to different hosts, mainly towards solanaceous species commonly found in Brazil and to study aerial inoculum (sporangia) temporal dynamics. Survival of *P. infestans* associated with tomato plant parts under greenhouse and field conditions was less than 100 and 35 days, respectively. Under greenhouse, pathogen structures were more promptly identified on crop debris kept on dry than on wet soil conditions. Isolates of two clonal lineages of *P. infestans*, US-1 and BR-1, isolated from tomato or potato, respectively, were inoculated on 43 plant species. Only two species, *Petunia hybrida* and *Nicotiana benthamiana*, were susceptible to *P. infestans*. Sporangia were monitored by Rotorod and Burkard spore traps and also by tomato and potato trap plants. Sporangia were captured in most weeks throughout 2004 and in the first two weeks of 2005. Most airborne inoculum captured with the Burkard trap was between 6:00 and 18:00 h. Airborne inoculum is abundant and is more important to late blight outbreaks than inoculum produced in crop debris.

1. Introdução

A dinâmica dos inóculos primário e secundário associados às epidemias de requeima (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e da batateira (*Solanum tuberosum* L.) não é conhecida no Brasil. A sobrevivência de hifas e esporângios associados a restos de cultura ou a hospedeiros, bem como a dinâmica de inóculo secundário ao longo das estações de cultivo em regiões de clima tropical/subtropical, podem diferir do que se estabelecem para regiões de clima temperado. Em locais onde são formados os oósporos podem ser inóculos primários para epidemias de requeima (Drenth *et al.*, 1995; Andersson *et al.*, 1998; Govers, 2001; Fernández-Pavía *et al.*, 2004). No Brasil, oósporos ainda não foram encontrados, e não há evidências de reprodução sexuada de *P. infestans*, mesmo havendo isolados de grupos de compatibilidade distintos, A1 e A2 (Reis *et al.*, 2003). Assim, as principais estruturas associadas à dinâmica temporal da requeima e à sobrevivência de *P. infestans* são micélio, esporangióforos e esporângios.

Resultados de experimentos visando determinar a sobrevivência de micélio, esporangióforos e esporângios de *P. infestans* são, em geral, díspares (Andrivon, 1995). O micélio pode sobreviver em solo úmido esterilizado por até 63 dias e, em solo não esterilizado, por 35 dias (Zan, 1962). O tempo de sobrevivência é maior quando o micélio coloniza tubérculos de batata, os quais podem resultar em plantas doentes em safras sucessivas (Kirk, 2003). Antes do surgimento do segundo grupo de compatibilidade de *P. infestans* (A2), distante do seu local de origem, no México (Fry & Goodwin, 1997), vários autores consideravam o tubérculo infectado como a principal fonte de inóculo para epidemias de requeima em safras de batata na América do Norte e na Europa (Zwankhuizen *et al.*, 1998). Esporângios de *P. infestans* são estruturas sensíveis à temperatura (Sato, 1994a e b), radiação solar (Mizubuti *et al.*, 2000; Porter & Johnson, 2004), umidade (Harrison & Lower, 1989; Minogue & Fry, 1981; Porter & Johnson, 2004) e antagonistas, quando no solo (Andrivon, 1994a). O tempo médio de viabilidade de esporângios destacados e expostos a temperaturas entre 15 e 20°C e umidade relativa entre

40 e 88% é de, aproximadamente, 6 horas (Minogue & Fry, 1981). Entretanto, as chances de sobrevivência dos esporângios de *P. infestans* são maiores quando em solo úmido e sombreado (Porter & Johnson, 2004). Em condições controladas, a sobrevivência dos esporângios de *P. infestans* em solo não esterilizado foi de 63 dias e em solo esterilizado de 77 dias (Zan, 1962). Diferentemente, quando expostos à condição natural, a qual sobreviveu por aproximadamente 20 dias (Porter & Johnson, 2004).

É possível que o tempo de sobrevivência das estruturas assexuadas de *P. infestans* associadas a restos de cultura seja maior que em solo, em razão da proteção conferida pelo tecido aos fatores abióticos. Ainda não se conhece o tempo de sobrevivência do patógeno em hastes, folíolos e frutos de tomateiro.

Plantas silvestres e cultivadas podem ser hospedeiras de *P. infestans* e, portanto, contribuir para a sobrevivência do patógeno, além de constituírem reservatório de inóculo (Erwin & Ribeiro, 1996). Solanáceas silvestres infectadas por *P. infestans* que crescem próximas a cultivos comerciais de batata foram relatadas no Peru (Garry *et al.*, 2000). Hospedeiros nativos, como *Solanum nigrum* e *S. dulcamara*, são suscetíveis a isolados dos dois grupos de compatibilidade de *P. infestans*; conseqüentemente, a infecção conjunta nestas plantas aumenta as chances de formação de oósporos (Flier *et al.*, 2003). Recentemente, no norte da Irlanda, demonstrou-se que inóculo produzido em plantio de batata infectava *S. dulcamara*, planta comum e perene da região (Cooke *et al.*, 2002). Além do grupo das solanáceas, quatro espécies de Asteraceae foram confirmadas como hospedeiras de *P. infestans*; a espécie *Solanecio biafrae* foi suscetível ao inóculo vindo de plantas de tomate e *Ageratum conyzoides*, *Aspilia africana* e *Dichrocephala integrifolia*, ao inóculo proveniente de batata (Fontem *et al.*, 2004). Erwin & Ribeiro (1996) listam cerca de 89 espécies de plantas hospedeiras a *P. infestans*, relatados na literatura mundial, entre estas, algumas de importância econômica para o Brasil, como a berinjela e o pimentão. Porém, são poucas as informações sobre o modo de infecção e colonização do patógeno nestes hospedeiros (Garry *et al.*, 2000; Flier *et al.*, 2003).

A América do Sul é considerada o centro de diversidade de muitas espécies de plantas, inclusive a batateira e o tomateiro (Shaw & Wattier, 2002). No entanto, o conhecimento sobre a suscetibilidade das plantas silvestres ou ornamentais a *P. infestans* é escasso. Tampouco se conhece a contribuição destas plantas como fontes de inóculo. A eliminação de plantas silvestres ou cultivadas pode ser recomendada com base em informações acerca de sua capacidade de atuarem como fonte de inóculo para epidemias de requeima. Com o conhecimento da variação do inóculo em função dos diferentes tipos de

fontes, como as culturas de batata e tomate e possivelmente de plantas hospedeiras alternativas e restos de cultura infectados, maiores serão as chances de proteção das culturas contra *P. infestans*.

A ausência de invernos rigorosos e prolongados, o monocultivo, a possibilidade de várias safras de batata e tomate e condições climáticas favoráveis fazem com que epidemias de requeima sejam severas em várias regiões brasileiras. A dispersão dos esporângios de *P. infestans* ocorre principalmente pelo vento (Aylor *et al.*, 2001). Em dias nublados, frescos e úmidos o inóculo pode ser transportado a longas distâncias com prováveis chances de ocorrer infecção (Harrison, 1992; Mizubuti *et al.*, 2000). O pico de maior liberação de esporângios ocorre entre 10:00 e 13:00 h, quando a baixa umidade facilita a dispersão pelo vento (Aylor *et al.*, 2001).

O monitoramento de esporos dispersos pelo vento contribui para o entendimento de epidemias de doenças de plantas (Aylor, 1993). Há vários estudos referentes à quantificação da concentração de esporângios de *P. infestans* ao longo da estação de cultivo conduzidos em regiões de clima temperado, como América do Norte e Europa (Waggoner, 1952; Hirst, 1958; Phukan & Baruah, 1993). Nestas regiões, os invernos são rigorosos com temperaturas inferiores a 0 °C, condições em que as estruturas assexuadas do patógeno não sobrevivem (Bruyn, 1926; Andersson *et al.*, 1998; Kirk, 2003). Em países de clima subtropical ou tropical, acredita-se haver maior disponibilidade de inóculo para epidemias de requeima. O entendimento da dinâmica de inóculo ao longo do ano é importante para subsidiar a escolha de medidas de controle, como a aplicação de fungicidas protetores antecedendo a época de aumento da concentração de inóculo, e plantios de culturas não hospedeiras do patógeno, quando em épocas favoráveis à doença.

Em vista da escassez de informações quanto às prováveis fontes de inóculo de *P. infestans* no Brasil, esse estudo objetivou: *i.* determinar o tempo de sobrevivência do patógeno em hastes, folíolos e frutos de tomateiro em solo; *ii.* verificar a especificidade de *P. infestans* por meio de teste centrífugo-filogenético com a inclusão de espécies nativas do Brasil e *iii.* estudar a dinâmica temporal do inóculo de *P. infestans* no ar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em restos culturais de tomate

2.1.1. Preparo das amostras

Foram realizados três plantios de tomateiro ‘Santa Clara’ em área experimental do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (20° 44’ 44’’S; 42° 50’ 59’’O, 661m de altitude), em fevereiro, junho e julho de 2004. Durante os cultivos, foram realizadas adubações químicas preconizadas para a cultura e aplicações semanais de fungicidas e inseticidas até 35 dias após o transplântio das mudas. A partir desta época, permitiu-se a inoculação natural de esporângios de *P. infestans*. Eventuais inóculos de outros organismos fitopatogênicos e possíveis pragas foram controlados com o uso de fungicidas e inseticidas específicos, respectivamente.

Para quantificar a sobrevivência das estruturas assexuadas nos restos culturais de tomateiro, foram conduzidos três ensaios em casa de vegetação e dois em campo. Para todos os ensaios, os materiais vegetais infectados foram coletados quando a severidade média da requeima aproximou-se de 25%. Foram escolhidas plantas de tomate com lesões nas hastes, folhas e frutos. De cada plantio, cerca de 80 plantas foram seccionadas próximo à superfície do solo e mantidas sob câmara úmida (sacos plásticos) em câmara de crescimento a 18 °C, fotoperíodo de 12 h, por 48 h, para favorecer a esporulação.

2.1.2. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em casa de vegetação

Os materiais vegetais utilizados nos dois primeiros ensaios procederam do plantio realizado em fevereiro e coletado em maio. O material para o terceiro ensaio procedeu do plantio realizado em junho e coletado em setembro.

Após incubação em câmara de crescimento, as hastes foram seccionados em pedaços de 8 cm de comprimento, cuja região central continha lesão causada por *P. infestans*. A área lesionada pelo patógeno, de modo geral, estendeu-se por 35 a 50 % do fragmento. Folíolos do terço superior e médio de tomateiros, com lesões de requeima, foram cuidadosamente destacados das folhas para evitar a perda dos esporângios. O valor médio da área lesionada dos folíolos de tomateiro foi de 3 cm². Para o terceiro ensaio, foram escolhidos os folíolos do terço médio e a área média lesionada foi 8 cm².

Frutos verdes de tomate com lesão de requeima também foram utilizados. O peso médio dos frutos foi de 105,9 g e 83,7 g para os dois primeiros ensaios e para o terceiro, respectivamente. Em todos os ensaios, a área lesionada média foi de 40 ± 5 % da extensão do fruto. Todas as estimativas de área lesionada foram obtidas por meio de avaliação visual das partes vegetais (Horsfall & Barratt, 1945).

As hastes, os folíolos e os frutos de tomate foram depositados na superfície de seção de 12 x 13 cm de telas de náilon (malha = 1mm²). Três fragmentos de hastes foram depositados sobre uma seção de tela de náilon. O peso das três hastes variou de 15 a 30 g. Os folíolos de tomateiro foram colocados com a face abaxial voltada para cima sobre a tela, de modo a preencher toda a área da seção de tela com o mínimo de sobreposição entre folíolos. No segundo e terceiro ensaios, foram colocados dez e seis folíolos na seção, respectivamente.

Após a disposição de hastes e folíolos sobre as seções de tela de náilon, outra seção de tela, também de 12 x 13 cm, foi posicionada sobre cada material, de modo a cobrir as hastes e folíolos formando sacolas, que foram fixadas nos bordos com seis grampos metálicos. Um fruto lesionado foi colocado em um saco de mesma dimensão. O conjunto das três hastes, dos folíolos ou de um fruto foi considerado uma unidade amostral.

2.1.2.1. Tratamentos e avaliação

Cada unidade amostral foi colocada na superfície ou a 10 cm de profundidade em solo de barranco (latossolo vermelho-amarelo; 70 % argila e 30 % de areia; sem matéria orgânica), não esterilizado, contido em vasos de 1,5 L, mantidos em casa de vegetação. Para cada material vegetal infectado, estudou-se a sobrevivência do patógeno tanto em solo seco quanto em úmido. No tratamento com solo úmido, 240 mL de água de torneira foram distribuídos de maneira uniforme de modo a umedecer todo o solo. As irrigações foram realizadas a cada 3 dias, de forma que o solo permanecessem entre a capacidade de campo

e o ponto de saturação, que foram determinados por análises de rotina de laboratório de solo.

As amostras foram retiradas após diferentes intervalos de tempo, conforme o ensaio. No primeiro ensaio, as retiradas ocorreram aos 0, 3, 8, 13, 16, 22, 27 e 36 dias; no segundo ensaio, aos 0, 3, 8, 13, 16, 22, 27 e 35 dias e no terceiro, aos 0, 7, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após terem sido colocadas no solo.

Para quantificar a sobrevivência, dois procedimentos foram realizados: observação direta de sinais (esporangióforos com esporângios) e bioensaio (Drenth *et al.*, 1995). Para ambos, as amostras foram analisadas em laboratório. Os grampos metálicos que prendiam os bordos das telas de náilon foram retirados e uma seção de tela serviu como suporte. As amostras foram lavadas com água de torneira para retirar o excesso de solo. Em média 900 mL de água foram gastos para retirada do excesso de solo contido nas amostras. A água da lavagem foi recolhida em bandejas plásticas (38 x 26 x 7 cm), forradas com tripla camada de papel toalha.

2.1.2.2. Avaliação da sobrevivência pela observação direta

Após a lavagem das amostras sobre a tela de náilon (item 2.1.2.1), o material vegetal foi acondicionado em caixas tipo “gerbox”, forradas com espuma umedecida com água de torneira, de modo a formar câmara úmida. As caixas contendo as respectivas amostras foram mantidas em câmara de crescimento a 18 °C e fotoperíodo de 12 h. Após 5 dias, as amostras foram analisadas sob microscópio estereoscópico. No caso de diagnose duvidosa, foram montadas lâminas e realizadas observações ao microscópio, no aumento de 100x, para análise detalhada das estruturas. Contou-se o número de folíolos, hastes e frutos com estruturas de *P. infestans*.

2.1.2.3. Avaliação da sobrevivência com bioensaio

As bandejas que continham água de lavagem dos materiais vegetais foram mantidas em câmara de crescimento a 18 °C e fotoperíodo de 12 h. Sobre a superfície da água contida nas bandejas, foram depositados dez folíolos de tomateiro ‘Santa Clara’, sem sintomas de requeima, cultivados em casa de vegetação, com idade entre 5 e 6 semanas. Os folíolos foram posicionados com a face abaxial em contato com a água, conforme descrito por Drenth *et al.* (1995). As bandejas foram cobertas com sacos plásticos, para impedir a

contaminação dos folíolos por eventual inóculo existente na câmara de crescimento. Como testemunha, foi utilizada uma bandeja com 900 mL de água de torneira, onde foram depositados folíolos de tomateiro sem sintomas de requeima. Após 2 dias, a água contida nas bandejas foi retirada e os folíolos foram posicionados com a face abaxial voltada para cima. As bandejas foram novamente cobertas com saco plástico. Transcorridos 5 dias, as bandejas mantidas em câmara de crescimento foram levadas para o laboratório, e as amostras foram examinadas ao microscópio estereoscópico para detecção de sinais de *P. infestans*. No caso de diagnose duvidosa, foram montadas lâminas e realizadas observações ao microscópio, no aumento de 100x, para análise detalhada das estruturas. A partir do número de folíolos com sinais do patógeno, calculou-se a incidência de folíolos afetados.

2.1.2.4. Registro de variáveis climáticas

No primeiro e segundo ensaios, a temperatura e a umidade relativa foram registradas com dois termômetros de mercúrio e um termohigrógrafo. Um termômetro foi instalado em vaso com solo úmido e o outro em vaso com solo seco, e os bulbos de ambos foram posicionados a 10 cm de profundidade. Anotações diárias da temperatura do solo foram realizadas entre as 17:00 e 18:00 h. No terceiro ensaio, as variáveis climáticas foram registradas com um termohigrógrafo e sensores de temperatura de solo (Temperature Probe Modelo 108) e umidade do solo (Soil Moisture Block Modelo 227), acoplados a coletor automático de dados (CR-10X Campbell Scientific®). Para medir a temperatura e umidade do solo, dois sensores foram instalados a 10 cm de profundidade, em vaso com solo úmido e o outro em solo seco.

2.1.2.5. Delineamento experimental e análise estatística

Os ensaios foram montados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 x 2 (3 tipos de material vegetal: haste, folíolo e fruto; 2 regimes de irrigação: molhado e não molhado e 2 posições: superfície e enterrado), com quatro repetições. Análises estatísticas descritivas foram realizadas utilizando o programa SAS System v 8.0.

2.1.3. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em condições de campo

2.1.3.1. Tratamentos e avaliação

Os materiais vegetais utilizados no primeiro e segundo ensaios foram obtidos nos plantios de tomate realizados em junho e julho, respectivamente. O preparo e montagem das amostras de hastes, folíolos e frutos com lesões, foi conforme descrito em 2.1.1. e 2.1.2, sendo que no primeiro ensaio utilizou-se parte dos folíolos que foram preparados para o terceiro ensaio em casa de vegetação. Para o segundo ensaio, foram colocados seis folíolos do terço inferior por envelope, com área foliar média de 35 cm² e área foliar média lesionada de 10 cm². As amostras foram posicionadas na superfície ou a 10 cm de profundidade no solo, sendo presas por fio de náilon às placas de identificação.

O ensaio foi instalado na área experimental do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. A composição química do solo foi determinada (pH de 6,2; teor de K 114 mg/dm³; teor de P 24,1 mg/dm³; teor de Ca²⁺ 2,74 cmol/dm³) e o solo foi classificado como latossolo vermelho amarelo, classe textural argilosa, com baixo teor de matéria orgânica.

As avaliações para quantificar a sobrevivência foram realizadas aos 0, 7, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a instalação de cada ensaio. Os mesmos procedimentos empregados em 2.1.2.2 e 2.1.2.3 foram utilizados nos ensaios de campo.

2.1.3.2. Registro de variáveis climáticas

As variáveis climáticas foram registradas por um heliógrafo e por sensores eletrônicos de temperatura do solo (Temperature Probe Modelo 108), umidade relativa e temperatura (Temperature and Relative Humidity Probe Modelo CS500), precipitação (Tipping Bucket Rain Modelo TE – 525) e molhamento de solo (Soil Moisture Block Modelo 227). Os sensores eletrônicos foram conectados à estação coletora automática de dados (CR-10X Campbell Scientific®). Para registro de temperatura do solo, foram utilizados dois sensores de temperatura posicionados a 10 e 20 cm de profundidade e um sensor de molhamento de solo instalado a 10 cm de profundidade.

Os ensaios foram montados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 (3 tipos de material vegetal: haste, folíolo e fruto x 2 posições: superfície e enterrado), com quatro repetições. Análises estatísticas foram realizadas como descrito em 2.1.2.5.

2.2. Hospedeiros alternativos de *Phytophthora infestans*

2.2.1. Isolados e preparo de inóculo

Em todas as inoculações foram utilizados quatro isolados de *P. infestans*. Dois isolados da linhagem clonal US-1, obtidos de tomateiro, um proveniente da região de Viçosa, MG, e o outro de Goiânia, GO, e dois isolados da linhagem clonal BR-1, obtidos de batateira, proveniente, respectivamente do Paraná, PR e do Rio Grande do Sul, RS.

Para o preparo e multiplicação do inóculo, os isolados foram cultivados em meio de cultura centeio sacarose ágar – B (Caten e Jinks, 1968) acrescido de antibióticos (Oyarzun *et al.*, 1998) em placas de Petri de 90 mm de diâmetro, à exceção do isolado de Viçosa, que foi mantido em folíolos destacados de tomateiro. As culturas em placas de Petri foram mantidas em incubadora a 18 °C e fotoperíodo de 16 h até que a colônia atingisse os bordos. Para o isolado de Viçosa, foram utilizados folíolos sadios de tomateiro ‘Santa Clara’, com idade entre 5 e 6 semanas, cultivados em casa de vegetação. Os folíolos foram acondicionados em três bandejas plásticas (38 x 26 x 7 cm, como em 2.1.2.1) desinfestadas com álcool 70 %. Os folíolos foram deixados com a face abaxial voltada para cima e tiveram o pecíolo envolto em algodão umedecido com água destilada. Antes da inoculação, atomizou-se água destilada nos folíolos e, em seguida, 40 mL de suspensão a $6,5 \times 10^6$ esporângios/mL coletados de folíolos de tomate infectados foram atomizados com auxílio de um pressurizador (Pressurized spray pack, Home Hardware Store Limited). Sacos de polietileno (capacidade de 50 L) umedecidos com água destilada foram utilizados para cobrir todas as bandejas. Após a inoculação, todo o material foi mantido em câmara de crescimento a 18°C e fotoperíodo de 12 h. O isolado de Goiânia foi inoculado em 36 frutos verdes de tomate, sendo 12 frutos por bandeja. Os frutos de tomate foram desinfestados com álcool 70 %. Cortes em forma de cruz foram feitos com bisturi esterilizado, em lados opostos de cada fruto. Os isolados de batata do Paraná e Rio Grande do Sul foram multiplicados em fatias (tipo rodela) de batata ‘Bintje’. As batatas foram lavadas em água corrente e deixadas para secar em condição ambiente. Em seguida, foram mergulhadas em álcool etílico e flambadas. Fatias de tubérculo com 0,5 a 0,8 cm de espessura foram cortadas assepticamente. Cerca de quatro fatias foram colocadas em caixas tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com álcool 70%. Cerca de 35 gerbox contendo as rodela de batata foram utilizadas para cada isolado pertencente à linhagem clonal BR-1. Um

chumaço de algodão umedecido com água destilada foi colocado dentro de cada gerbox para aumentar a umidade.

Os isolados, conforme o hospedeiro de origem, foram inoculados em frutos de tomate ou fatias de tubérculos com estilete esterilizado. Micélio do isolado de tomate crescido em meio de cultura foi transferido para o interior dos cortes em forma de cruz. Fatias de tubérculo foram inoculadas com duas porções do meio de cultura com micélio, nas extremidades opostas da fatia. Em seguida, cada bandeja e gerbox foram tampadas. Todos os procedimentos de inoculação, desde os cortes em frutos de tomate e fatias de tubérculo até a inoculação foram realizados em câmara de fluxo laminar.

Transcorridos 6 dias de incubação em câmara de crescimento a 18°C e fotoperíodo de 12 h, cada material foi transferido para Beckers contendo 250 mL de água destilada. Esporângios foram coletados por meio da lavagem do material colonizado, por leve agitação. Em seguida, a suspensão foi filtrada e ajustou-se a concentração final em $3,0 \times 10^3$ esporângios/mL. As suspensões de esporângios dos quatro isolados foram misturadas em iguais proporções e preparou-se 4,5 L de suspensão para a inoculação das plantas. Antes da sua utilização, cada suspensão foi mantida em geladeira por 60 min para induzir a formação de zoósporos. À suspensão de inóculo, foram acrescentado 0,45 ml de Tween 20 (0,01 %).

A escolha das plantas envolvidas neste teste obedeceu aos princípios propostos por Wapshere (1974), que avaliou a especificidade e análise de risco de potenciais agentes de controle biológico de plantas invasoras. Foram incluídas 43 espécies de plantas, com ênfase na família das solanaceae (23 espécies), mas também foram incluídos membros de família da mesma ordem e espécies com afinidade decrescente em relação ao tomateiro e batateira. Também foram incluídas plantas citadas em Erwin & Ribeiro (1996), mas consideradas duvidosas como hospedeiras de *P. infestans*.

A suspensão foi atomizada em 43 espécies de plantas (Tabela 3), cultivadas em vasos plásticos em casa de vegetação. Uma semana antes da inoculação, os vasos foram transferidos para condição de campo e vistoriados para confirmação de sua sanidade (quanto à ocorrência de requeima). Para a espécie *Cuscuta racemosa* foram utilizados segmentos de ramos de hibisco (*Hybiscus* sp.) colonizados pelo parasita, cortados e mantidos em vasos com água.

O experimento foi conduzido por duas vezes. Antes da inoculação, as plantas foram molhadas durante 30 min. No primeiro experimento, as plantas foram inoculadas às 21:00 h de 24 de novembro de 2004, e as avaliações estenderam-se até 15 de dezembro de 2004.

No segundo experimento, as plantas foram inoculadas às 22:00 h de 2 de janeiro de 2005, e as avaliações estenderam-se até 23 de janeiro de 2005. Após 12 h da inoculação, e diariamente, as plantas foram irrigadas três vezes ao dia, por aspersão, durante 30 min, à exceção dos dias em que choveu. Plantas de tomate ‘Santa Clara’ e batata ‘Bintje’ foram utilizadas como testemunha.

As variáveis climáticas foram registradas pelo uso de um termohigrógrafo, distante a 10 m do experimento, e por sensores de umidade relativa e temperatura (Temperature and Relative Humidity Probe Modelo CS500), precipitação (Tipping Bucket Rain Modelo TE – 525), velocidade do vento (Model-05403 wind monitor) e registrados em estação coletora automática de dados (CR-10X Campbell Scientific®) distante a 1 km do local.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada vaso contendo uma planta foi considerado uma repetição.

2.2.2. Avaliação

Avaliações não destrutivas foram feitas diariamente, utilizando-se para isso uma lupa de bolso (aumento de 20x). No caso de suspeita de infecção, a confirmação da presença de estruturas de *P. infestans* foi realizada com observação da parte afetada sob microscópio estereoscópico. Infecções foram consideradas estabelecidas somente quando verificada a presença de esporângios de *P. infestans*. No caso de diagnose duvidosa, foram montadas lâminas do material observado e levadas ao microscópio, no aumento de 100x, para análise detalhada das estruturas.

2.3. Dinâmica temporal do inóculo de *Phytophthora infestans* no ar

O monitoramento da quantidade de esporângios de *P. infestans* foi realizado em área experimental do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Três procedimentos foram empregados para o monitoramento: armadilha tipo Rotorod modelo 20 (Multidata LLC 4838 Park Glen Road St. Louis Park, MN 55416), armadilha volumétrica coletora de esporos tipo Burkard (Burkard Scientific, Rickmansworth, Hertfordshire, England) e lotes de plantas armadilhas.

2.3.1. Monitoramento com armadilha Rotorod

A armadilha Rotorod foi instalada a 4 m de altura do solo e a rotação de operação foi de 2400 rpm, com a qual foram amostrados cerca de 3,12 m³ de ar/min. Bastões de acrílico de 32 mm de comprimento e 1,52 mm de largura foram cobertos com uma camada de graxa de silicone e presos à armadilha Rotorod. O período de amostragem foi de 9:00 às 14:00 h, intervalo em que sabidamente há maior concentração de esporângios de *P. infestans* no ar (Bashi *et al.*, 1982). Diariamente, às 14:00 h, os bastões eram retirados e acondicionados em recipiente próprio para transporte até o laboratório, onde foi realizada observação microscópica, com aumento de 100X. Antes de iniciar nova amostragem, novos bastões eram colocados na armadilha que foi utilizada diariamente de 01 de março de 2004 a 15 de janeiro de 2005. A avaliação consistiu na contagem do número de esporângios de *P. infestans* aderidos aos bastões, e estimou-se a concentração diária de esporângios/m³ de ar, conforme a recomendação do fabricante (Multidata LLC 4838 Park Glen Road St. Louis Park, MN 55416).

2.3.2. Monitoramento com armadilha Burkard

A armadilha Burkard foi posicionada sobre suporte de concreto, de modo que o orifício coletor ficava a 3 m de altura do solo. A taxa de sucção foi ajustada para 0,39 m³ de ar/h. A fita utilizada na captura dos esporângios foi coberta com camada de graxa de silicone, e a substituição da fita ocorreu a cada 7 dias, quando esta era levada para o laboratório, onde foi realizada observação microscópica, com aumento de 400X. Determinou-se o número de esporângios coletados por dia da semana e estimou-se a concentração diária de esporângios/m³ de ar, conforme a recomendação do fabricante. O período de amostragem com essa armadilha foi de 15 de janeiro de 2004 a 15 de janeiro de 2005.

2.3.3. Monitoramento com plantas armadilhas

Lotes de dez plantas de tomate ‘Santa Clara’ com 45 dias de idade, cultivados em casa de vegetação, foram transferidos para a área experimental e trocados duas vezes por semana, a intervalos de 4 e 3 dias. O mesmo procedimento foi adotado para lotes de 10 plantas de batata ‘Bintje’ com 50 dias de idade, os quais foram substituídos a cada 15 dias.

A partir de outubro de 2004, houve a substituição da variedade de batata ‘ Bintje ’ por ‘ Monalisa ’. As plantas de tomate e batata foram dispostas de forma alternada em fileira única, espaçadas de 0,5 m entre plantas e posicionadas perpendicularmente à direção predominante do vento. Duas plantas de tomate ou duas de batata constituíram uma repetição. O período de amostragem das plantas em campo foi de 26 de fevereiro de 2004 a 13 de janeiro de 2005.

Duas folhas do terço superior, duas do terço mediano e duas do terço inferior, localizadas respectivamente a 10, 20 e 35 cm do ápice da planta de tomate foram destacadas e acondicionadas em sacola plástica, umedecida com água destilada. Para plantas de batata, foram destacadas todas as folhas de um ramo escolhido ao acaso. As sacolas plásticas foram mantidas em câmara de crescimento a 18 °C e fotoperíodo de 12 h, durante 5 dias (Drenth *et al.*, 1995). Como controle, foram utilizados folhas sadias de batateira e tomateiro adquiridas do cultivo em casa de vegetação e mantidas separadamente em sacolas plásticas umedecidas com água destilada. Após 5 dias, as sacolas foram levadas ao laboratório e os folíolos de cada folha foram analisados sob microscópio estereoscópico. No caso de diagnose duvidosa, foram montadas lâminas para exame ao microscópico, no aumento de 100X. Determinou-se o percentual de folíolos com sinais do patógeno.

2.3.4. Registro de variáveis climáticas

As variáveis climáticas foram registradas por sensores como em 2.1.3.2 (Temperature and Relative Humidity Probe Modelo CS500), precipitação (Tipping Bucket Rain Modelo TE – 525), velocidade do vento (Model-05403 wind monitor) e registrados em estação coletora automática de dados (CR-10X Campbell Scientific®).

2.3.5 Análise estatística

Efetuiu-se a correlação entre a concentração de esporângios e as variáveis climáticas, por meio do coeficiente de correlação de Spearman. O número de esporângios de um dado dia foi correlacionado às variáveis climáticas medidas no mesmo dia, bem como aos valores dos dias anteriores, por até 7 dias que antecederam a data inicial. Este procedimento foi denominado defasagem de 1, 2, 3, ... até 7 dias. Foi utilizado o programa SAS System v 8.0.

3. RESULTADOS

3.1 Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em casa de vegetação

Nos dois primeiros ensaios, o patógeno sobreviveu por período superior a 30 dias (Figuras 1D, 2C e D). Em observações sob microscópio estereoscópico, visualizaram-se esporângios e esporangióforos até o 8º dia em hastes mantidas na superfície e enterradas em solo seco no primeiro ensaio e em hastes enterradas em solo seco no segundo ensaio (Figuras 1A e 2A). Em solo úmido, foram observados esporângios somente até a segunda amostragem (3 dias). No primeiro ensaio, houve esporulação em folíolos, hastes e frutos mantidos na superfície e em hastes e frutos mantidos enterrados (Figura 1B). No segundo ensaio, em solo úmido, houve esporulação em hastes e frutos mantidos, tanto na superfície como enterrados até a segunda avaliação (Figuras 2B). Nos tratamentos mantidos secos, a quantidade de estruturas do patógeno visualizadas em microscópio estereoscópico foi maior (dados não apresentados) que nos tratamentos mantidos molhados.

Com base no bioensaio, no primeiro ensaio, o patógeno sobreviveu em folíolos mantidos na superfície e em hastes enterradas por até 36 dias em solo úmido (Figura 1D) e por 22 dias em folíolos e frutos mantidos enterrados em solo seco (Figura 1C). No segundo ensaio, foi detectada a presença de *P. infestans* por até 35 dias em frutos e hastes enterrados em solo seco, hastes mantidas na superfície em solo seco, frutos e folíolos na superfície do solo úmido e folíolos enterrados em solo úmido (Figuras 2C e D).

Nos dois primeiros ensaios, a temperatura do solo seco variou entre 19 e 29°C e do solo úmido, entre 17 e 26°C. As médias diárias de temperatura e umidade relativa em casa de vegetação, em ambos os ensaios, não ultrapassaram os limites de 15 e 20,8°C e 75 e 95% respectivamente (Figura 3).

No terceiro ensaio, o patógeno sobreviveu por período superior a 85 dias (Figura 4D). Esporângios e esporangióforos não foram observados a partir da segunda avaliação nas amostras analisadas sob microscópio estereoscópico. Porém, constatou-se a presença do patógeno sobrevivendo por 90 dias, com base no bioensaio (Figura 4D).

O patógeno sobreviveu por 30 dias em folíolos mantidos na superfície do solo seco, quando avaliado por meio do bioensaio (Figura 4C). Contudo, a sobrevivência do patógeno foi mais longa nos materiais vegetais que permaneceram em solo úmido. Nessas condições, nas hastes mantidas na superfície e no fruto enterrado, o tempo de sobrevivência foi de 75 e 90 dias, respectivamente (Figura 4D).

Os valores de temperatura média do solo seco variaram entre 20 e 35,5°C e, no solo úmido, entre 19,6 e 34°C. As médias diárias da temperatura e umidade relativa em casa de vegetação não ultrapassaram os limites de 19 e 29°C e 65 e 92%, respectivamente (Figura 5).

3.2 Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em condições de campo

No primeiro ensaio, não foram observadas estruturas do patógeno após a primeira avaliação, em todas as amostras observadas sob microscópio estereoscópico (Figura 6A e B). Entretanto, no segundo ensaio, após uma semana, foram observados esporângios de *P. infestans* em folíolos e hastes mantidos na superfície do solo e em hastes e frutos enterrados (Figura 7C e 7).

O bioensaio demonstrou que *P. infestans* sobreviveu no campo por até 30 dias (Figura 7C). No primeiro ensaio, estruturas do patógeno foram detectadas em frutos de tomate mantidos na superfície e enterrados em solo até 15 dias após do início do ensaio (figuras 6C e 6D). No segundo ensaio, estruturas viáveis formadas em folíolos mantidos na superfície do solo foram detectadas até 30 dias após o início do ensaio (Figura 7C).

A umidade relativa média foi de 80% durante os dois ensaios conduzidos em campo. Durante o mês de setembro não choveu, e o número médio de horas de brilho solar foi de 7,1 h. A temperatura média durante o primeiro e segundo ensaios foi de 21 e 22°C, respectivamente (Figura 8).

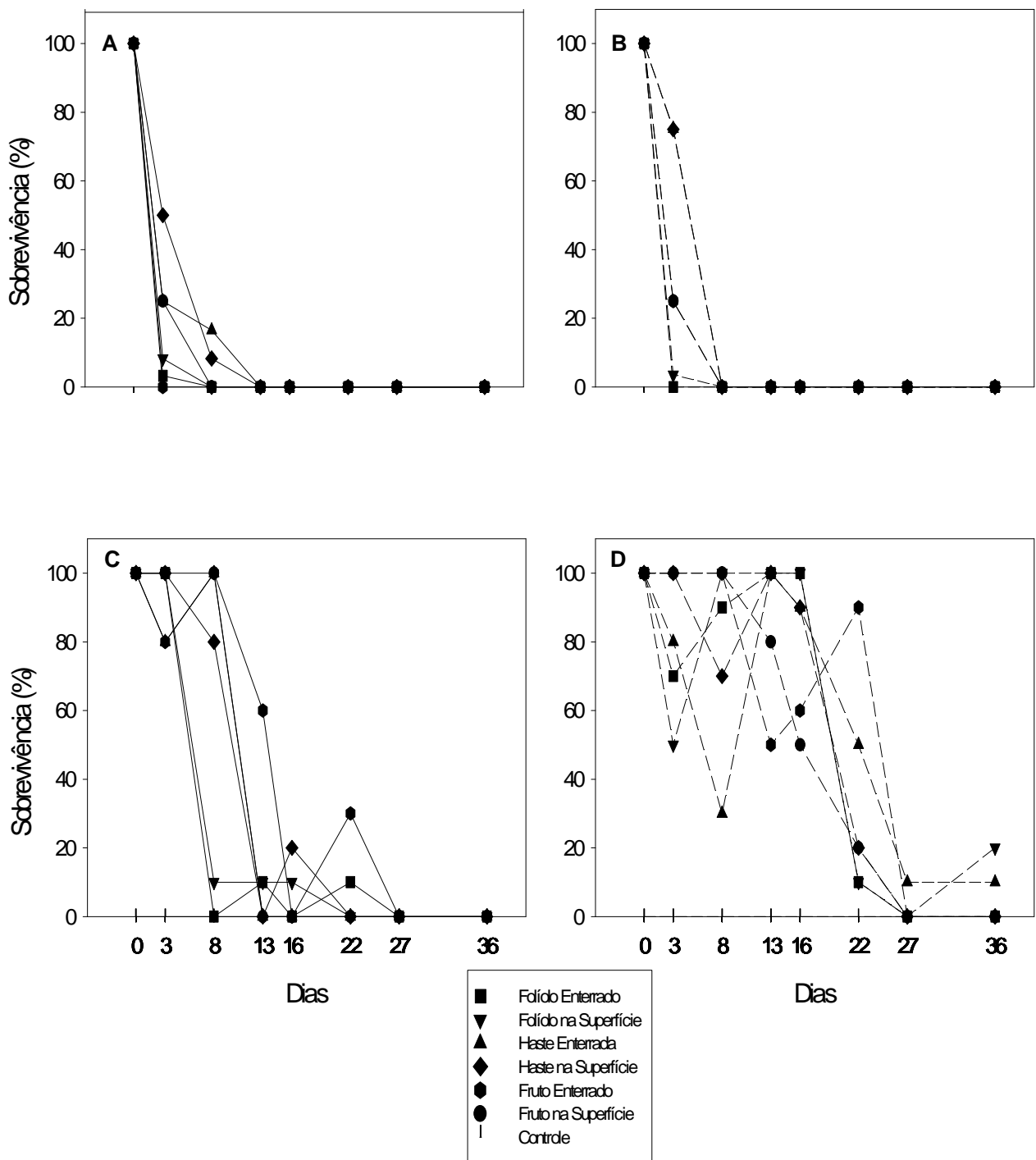


Figura 1. Ensaio 1 em casa de vegetação. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em restos culturais de tomateiro mantidos na superfície do solo ou a 10 cm de profundidade, de acordo com observação direta de estruturas (A e B) ou bioensaio (C e D), em solo seco (A e C) ou úmido (B e D). Cada ponto representa a média de quatro repetições.

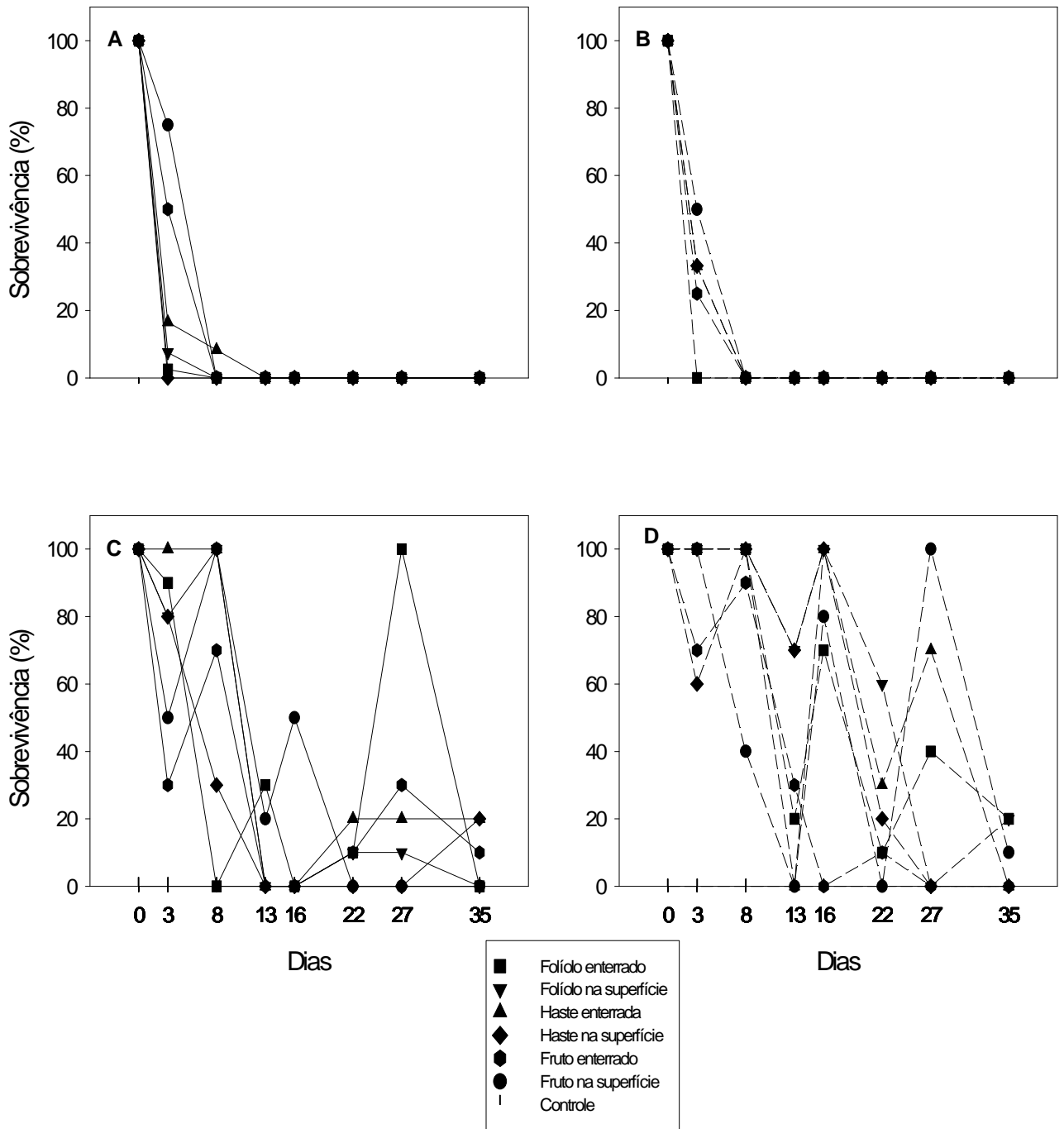


Figura 2. Ensaio 2 em casa de vegetação. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em restos culturais de tomateiro mantidos na superfície do solo ou a 10 cm de profundidade, de acordo com observação direta de estruturas (A e B) ou bioensaio (C e D), em solo seco (A e C) ou úmido (B e D). Cada ponto representa a média de quatro repetições.

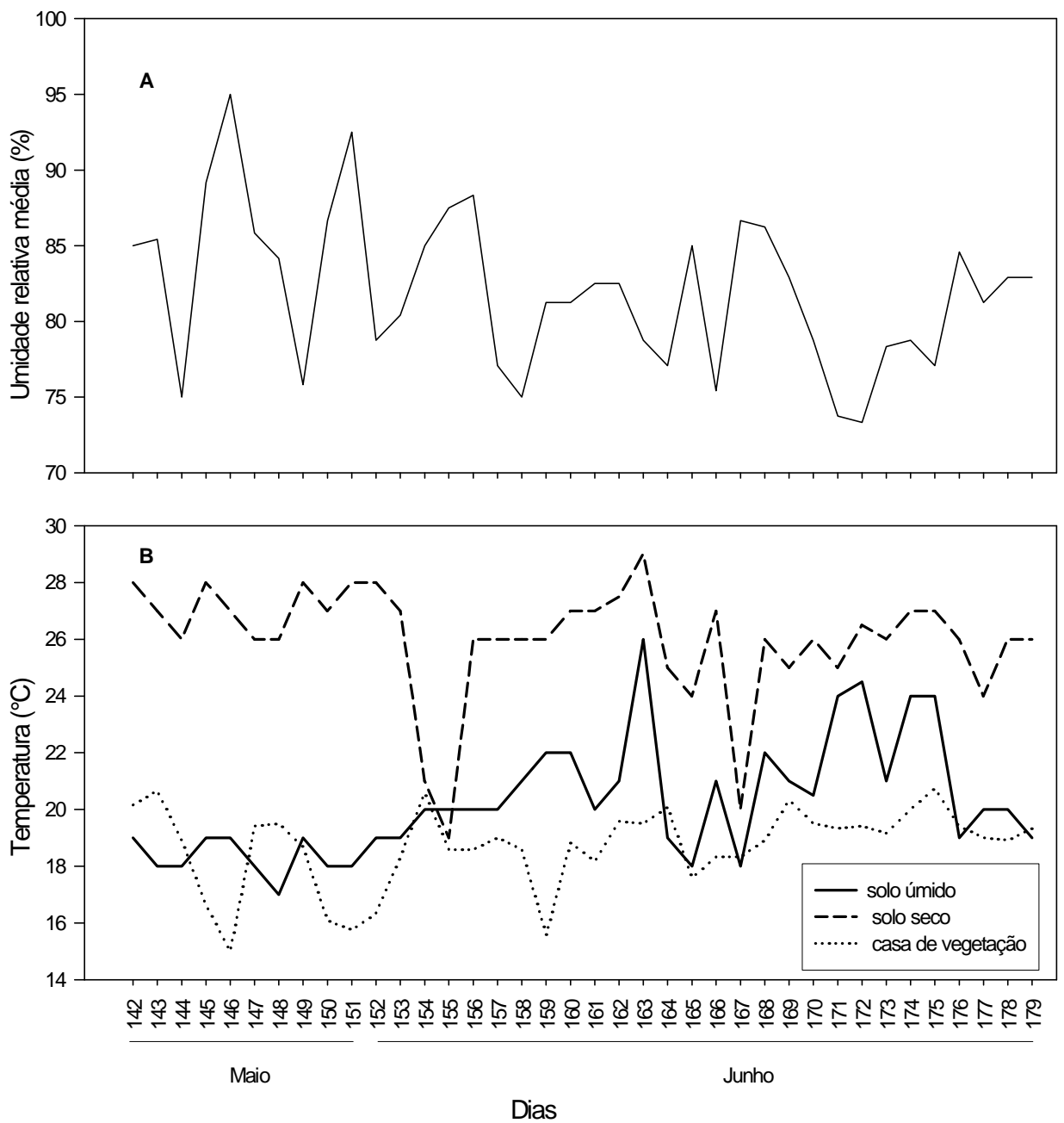


Figura 3. Umidade relativa (A) e temperatura média do solo úmido, seco e em casa de vegetação (B), registrada ao longo dos dois ensaios conduzidos de maio a junho de 2004.

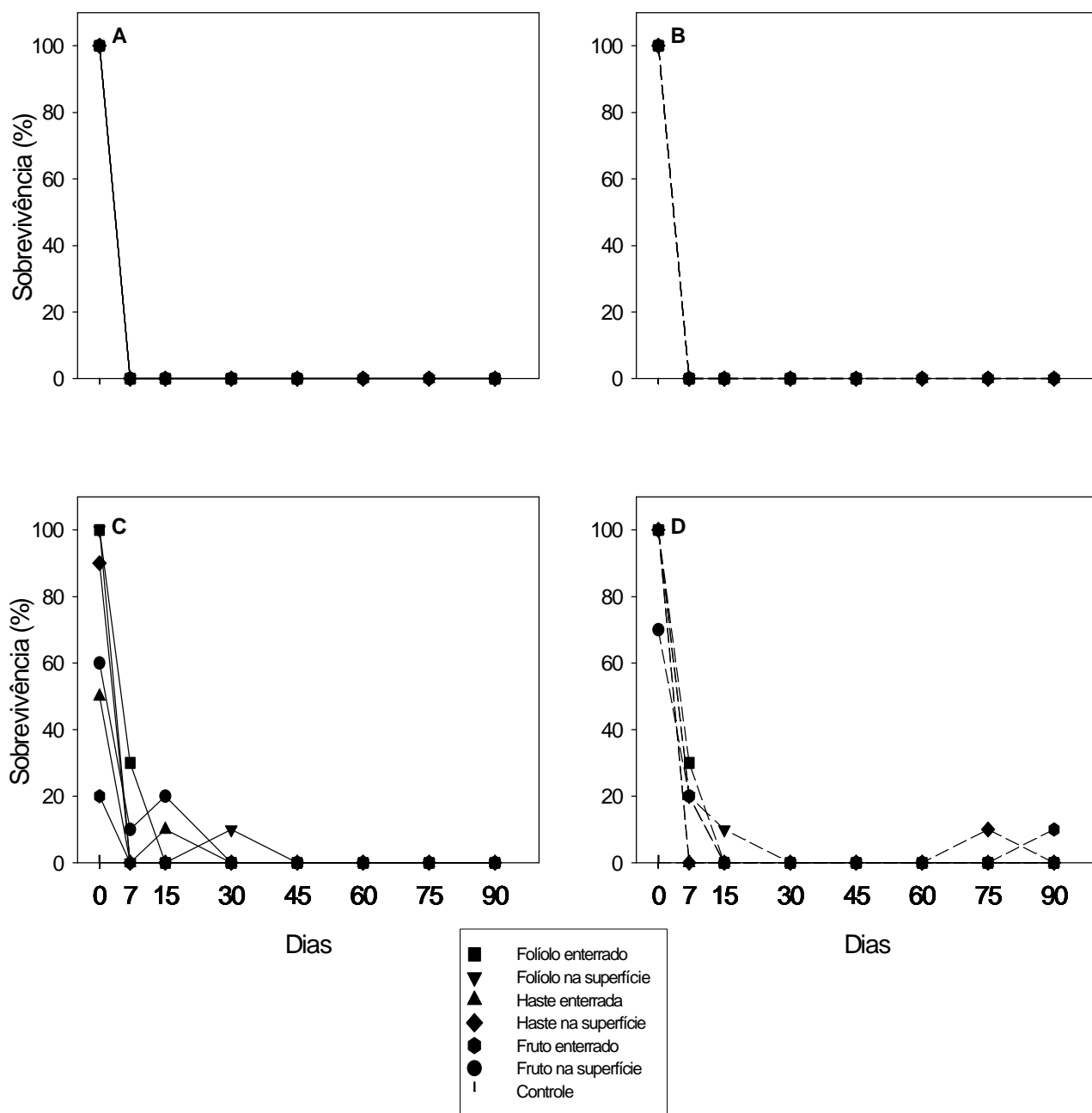


Figura 4. Ensaio 3 em casa de vegetação. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em restos culturais de tomateiro mantidos na superfície do solo ou a 10 cm de profundidade, de acordo com observação direta de estruturas (A e B) ou bioensaio (C e D), em solo seco (A e C) ou úmido (B e D). Cada ponto representa a média de quatro repetições.

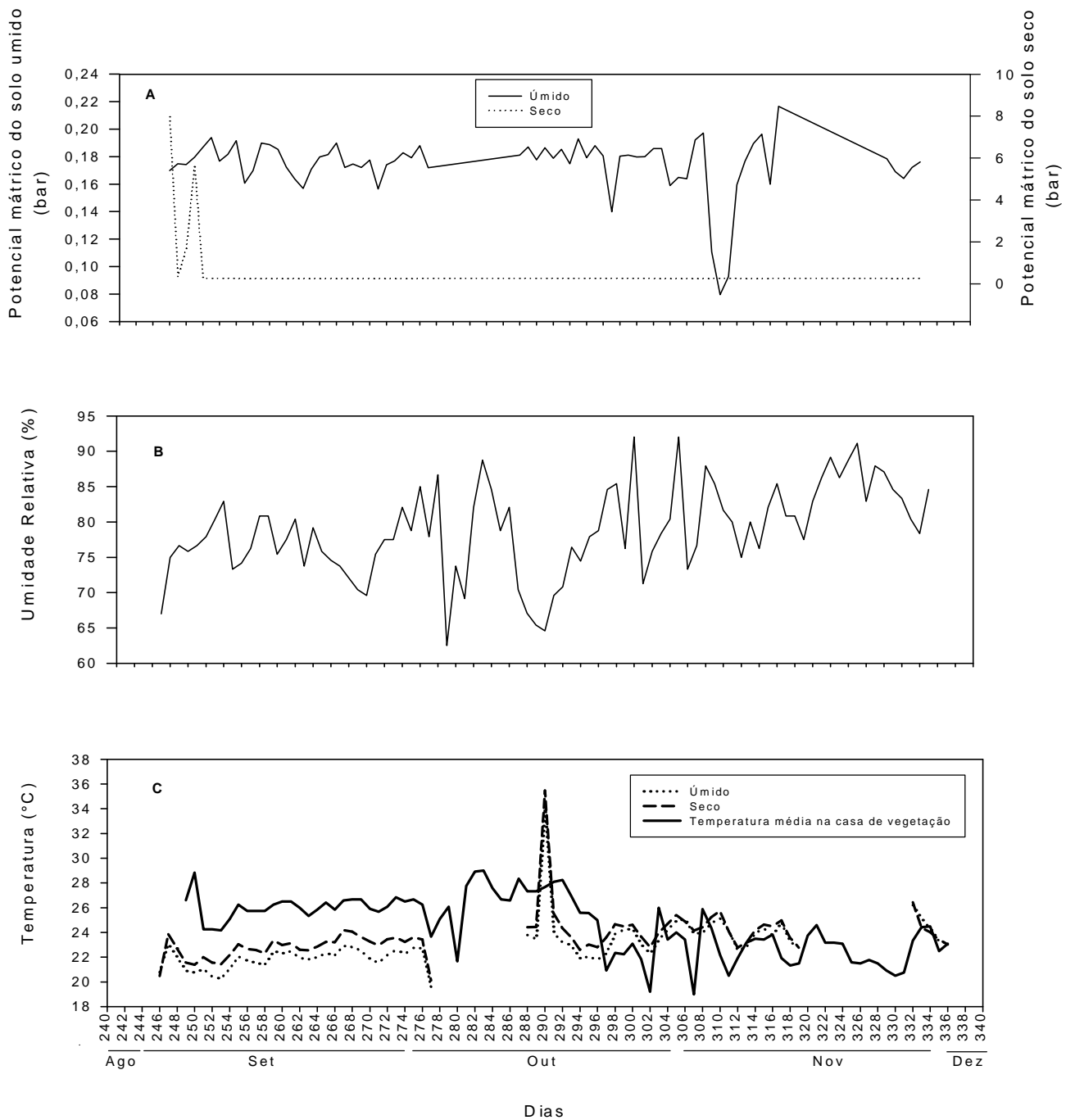


Figura 5. Potencial mátrico (A), umidade relativa média na casa de vegetação (B) e temperaturas médias do solo úmido, seco e em casa de vegetação (C), registrados no terceiro ensaio conduzido em casa de vegetação, de agosto a dezembro de 2004.

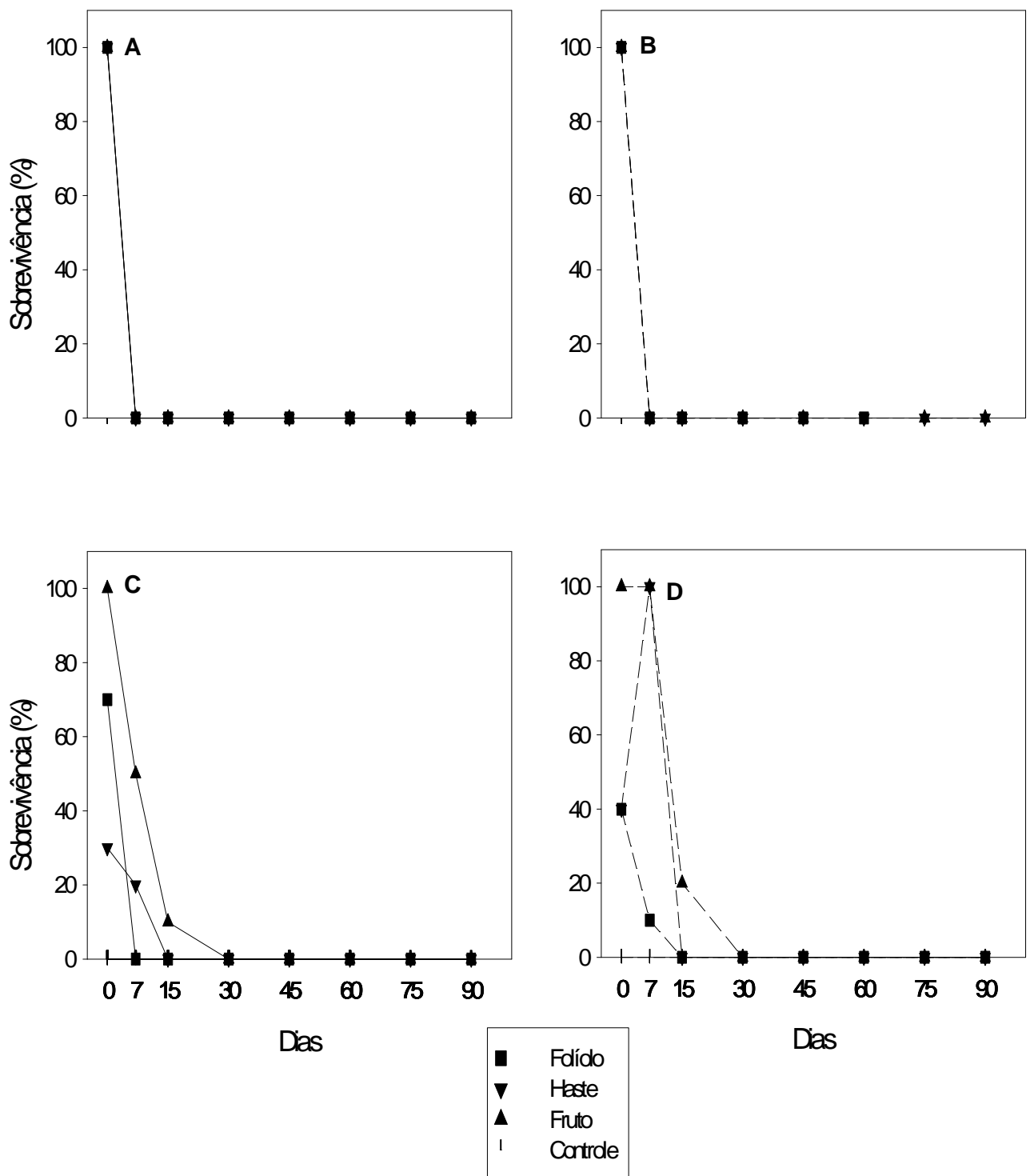


Figura 6. Ensaio 1 em campo. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em restos culturais de tomateiro mantidos na superfície do solo (A e C) ou enterrados a 10 cm de profundidade (B e D), de acordo com observação direta de estruturas (A e B) ou bioensaio (C e D). Cada ponto representa a média de quatro repetições.

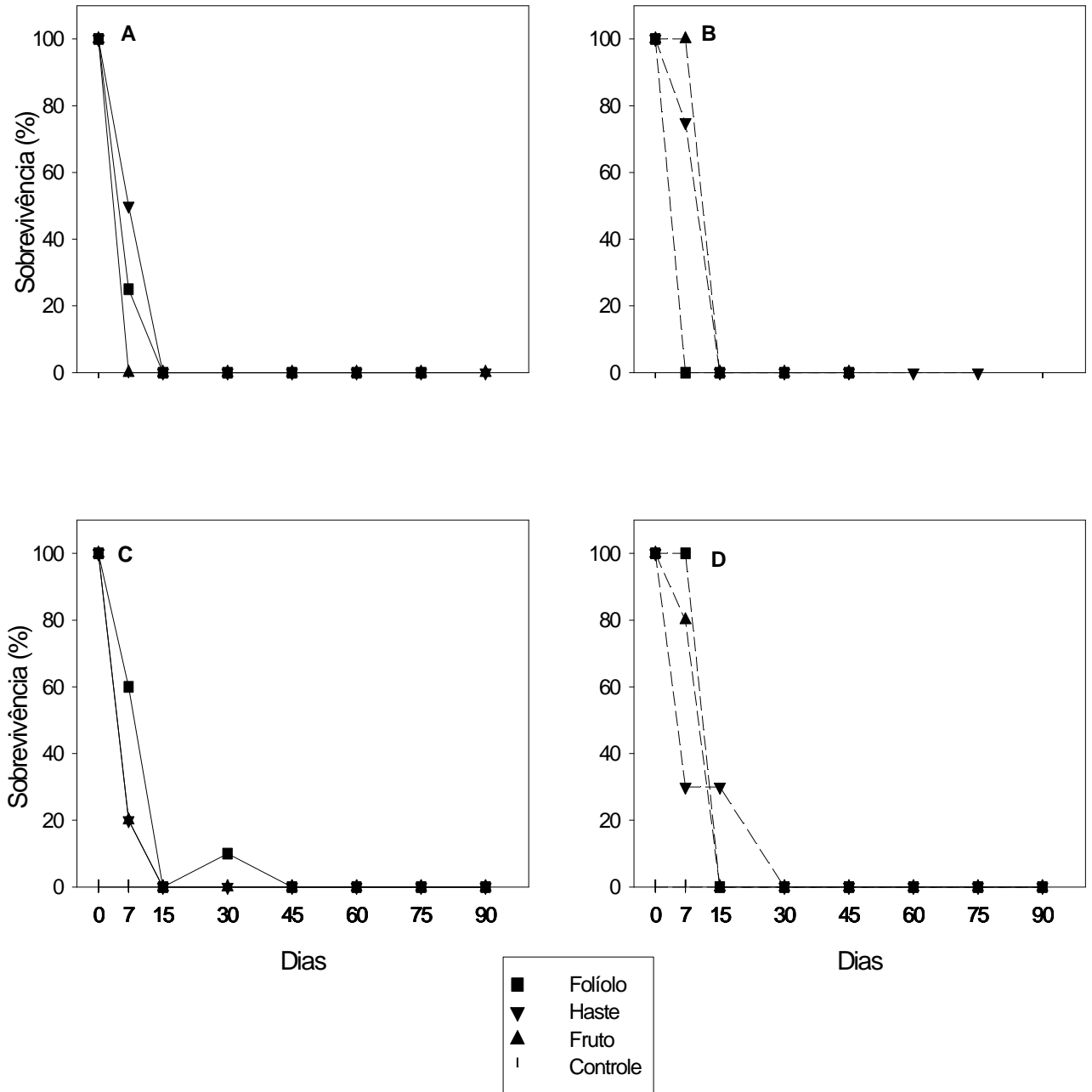


Figura 7. Ensaio 2 em campo. Sobrevivência de *Phytophthora infestans* em restos culturais de tomateiro mantidos na superfície do solo (A e C) ou enterrados a 10 cm de profundidade (B e D), de acordo com observação direta de estruturas (A e B) ou bioensaio (C e D). Cada ponto representa a média de quatro repetições.

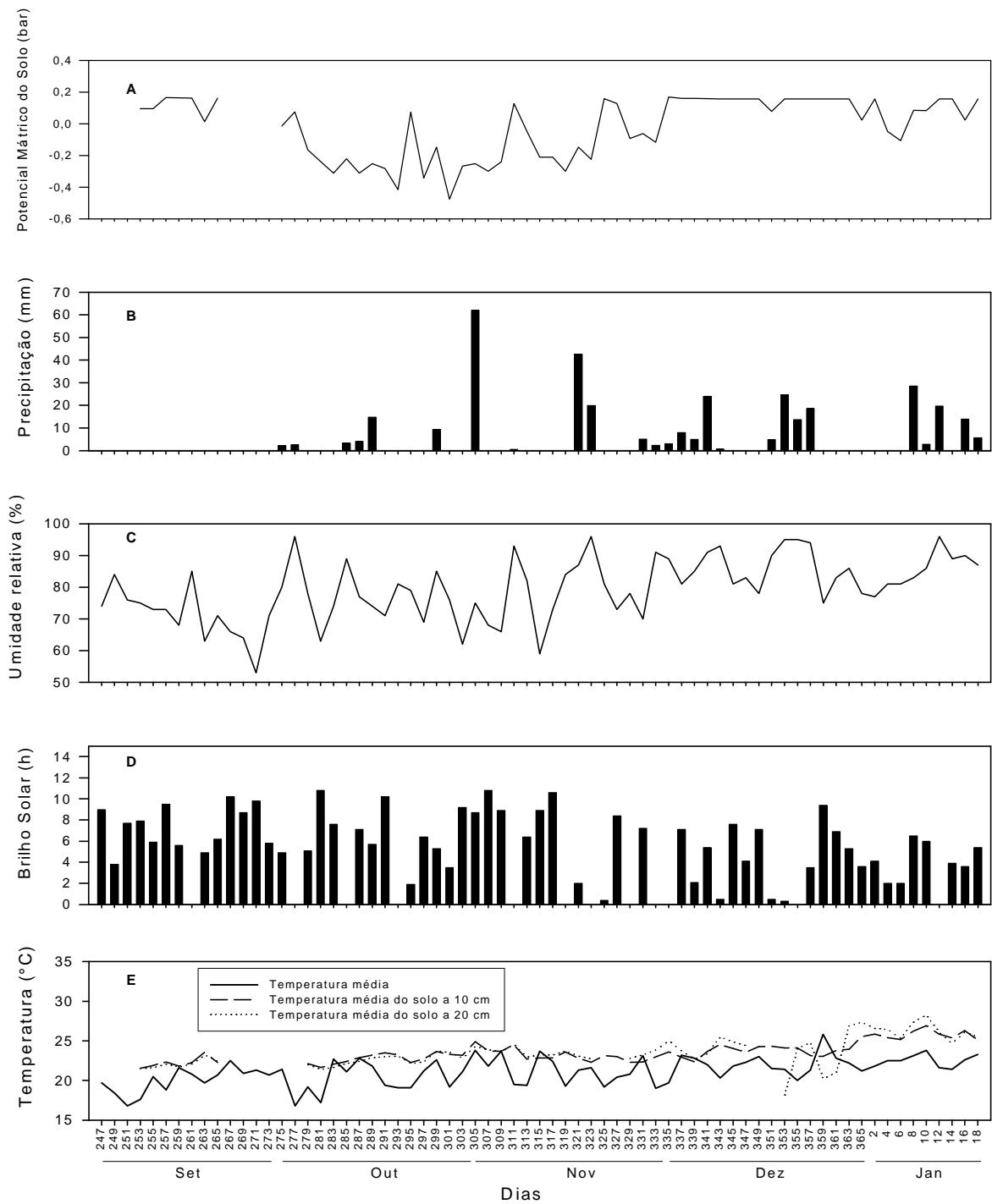


Figura 8. Variáveis climáticas do primeiro e segundo ensaios conduzidos em campo: Média do potencial mátrico (bar) (A), precipitação média (mm) (B), umidade relativa média (%) (C), média de horas de brilho solar (h) (D) e temperatura média (°C) (E), de setembro a dezembro de 2004 e janeiro de 2005.

3.3 Hospedeiros alternativos de *Phytophthora infestans*

Além de tomateiro e batateira utilizadas como controle, constataram-se sinais de *P. infestans* nas espécies *Petunia hybrida* e *Nicotiana benthamiana*. Todas as espécies infectadas pertencem à família Solanaceae (Tabela 1). Nas demais espécies, não foram constatados sintomas e/ou sinais do patógeno. No primeiro e segundo ensaios, sinais de *P. infestans* foram observados em folíolos de batata aos 4 dias após a inoculação, em todas as repetições. Em petúnia, apesar de os sintomas não serem tão evidentes como nos folíolos de batata (lesões de coloração marrom escura), estes foram observados em todas as repetições aos 5 dias após a inoculação, no primeiro experimento e no sexto dia do segundo ensaio, em duas repetições. Em *N. benthamiana* (incluída somente no primeiro ensaio), ocorreram sinais do patógeno em três repetições, 6 dias após a inoculação. Tanto em *P. hybrida* como em *N. benthamiana*, houve formação de lesões necróticas de coloração marrom clara e de formato irregular. Em tomate, sinais do patógeno ocorreram no sexto dia da inoculação em todas as repetições do primeiro ensaio e em duas repetições no segundo.

Durante a primeira semana após a inoculação, houve no primeiro ensaio, queda da temperatura, que atingiu 18°C e aumento da umidade relativa, que atingiu 80 %. Condições estas que favoreceram o desenvolvimento do patógeno. Já no segundo ensaio, a temperatura permaneceu na faixa de 24°C e a umidade relativa abaixo dos 60 % (Figuras 9 e 10).

A diversas espécies de solanáceas cultiváveis ou de ocorrência comum como invasoras ou nativas do Brasil incluídas no teste não foram suscetíveis a *P. infestans*.

Tabela 1. Reação de 43 espécies de plantas a isolados pertencentes aos grupos de compatibilidade A1 e A2 de *Phytophthora infestans*.

Família	Hospedeiro	Nome comum	Experimento 1	Experimento 2
Acanthaceae	<i>Pachystachys lutea</i>	Camarão amarelo	-	-
Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i>	Mentrasito	x	-
	<i>Emilia sonchifolia</i>	Falsa serralha	-	-
	<i>Erigeron bonariensis</i>	Buva	-	-
	<i>Galinsoga parviflora</i>	Botão de ouro	-	-
	<i>Sonchus oleraceus</i>	Serralha	-	-
Bignoniaceae	<i>Pyrostegia venusta</i>	Cipó de São João	-	-
Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i>	Sabugueiro	-	-
Convolvulaceae	<i>Ipomoea purpurea</i>	Campainha	-	-
	<i>Cuscuta racemosa</i>	Cipó chumbo	x	-
Geraniaceae	<i>Pelargonium hortorum</i>	Gerânio	-	-
Hydrophyllaceae	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	Phacelia azul	-	-
Nyctaginaceae	<i>Mirabilis jalapa</i>	Beijo de frade	-	-
Oleaceae	<i>Jasminum officinale</i>	Jasmim	-	-
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	Tanchagem	-	-
Polemoniaceae	<i>Phlox drummondii</i>	Chitinha	x	-
Polygonaceae	<i>Polygonum hydropiper</i>	Erva de bicho	-	-
	<i>Rumex acetosa</i>	Azedinha da horta	-	-
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	Café	-	-
Solanaceae	<i>Brugmansia suaveolens</i>	Trombeta	-	-
	<i>Capsicum annuum</i>	Pimentão	-	-
	<i>Capsicum frutescens</i>	Pimenta malagueta	-	-
	<i>Cestrum sp.</i>	Coerana	-	-
	<i>Datura stramonium</i>	Saia branca	-	-
	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomate	+	+
	<i>Nicandra physaloides</i>	Juá de capote	-	-
	<i>Nicotiana benthamiana</i>		+	x
	<i>Nicotiana rustica</i>		-	-
	<i>Nicotiana tabacum cv. TNN</i>	Tabaco	-	-
	<i>Petunia hybrida</i>	Petúnia	+	+
	<i>Physalis sp.</i>	Balão rajado	-	-
	<i>Solanum americanum</i>	Maria pretinha	-	-
	<i>Solanum capsicoides</i>	Melancia da praia	-	-
	<i>Solanum cernuum</i>	Braço de preguiça	-	-
	<i>Solanum gilo</i>	Jiló	-	-
	<i>Solanum lycocarpum</i>	Fruta de lobo	-	-
	<i>Solanum mauritianum</i>	Fumo bravo	-	-
	<i>Solanum melongena</i>	Berinjela	-	-
	<i>Solanum paniculatum</i>	Jurubeba verdadeira	-	-
	<i>Solanum viarum</i>	Juá bravo	-	-
	<i>Solanum tuberosum</i>	Batata	+	+
	<i>Vassobia breviflora</i>	Falsa coerana	-	-
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i>	Mal-me-quer	-	-

X = ausência da planta; + = Constatação dos sinais; - = Ausência dos sinais;

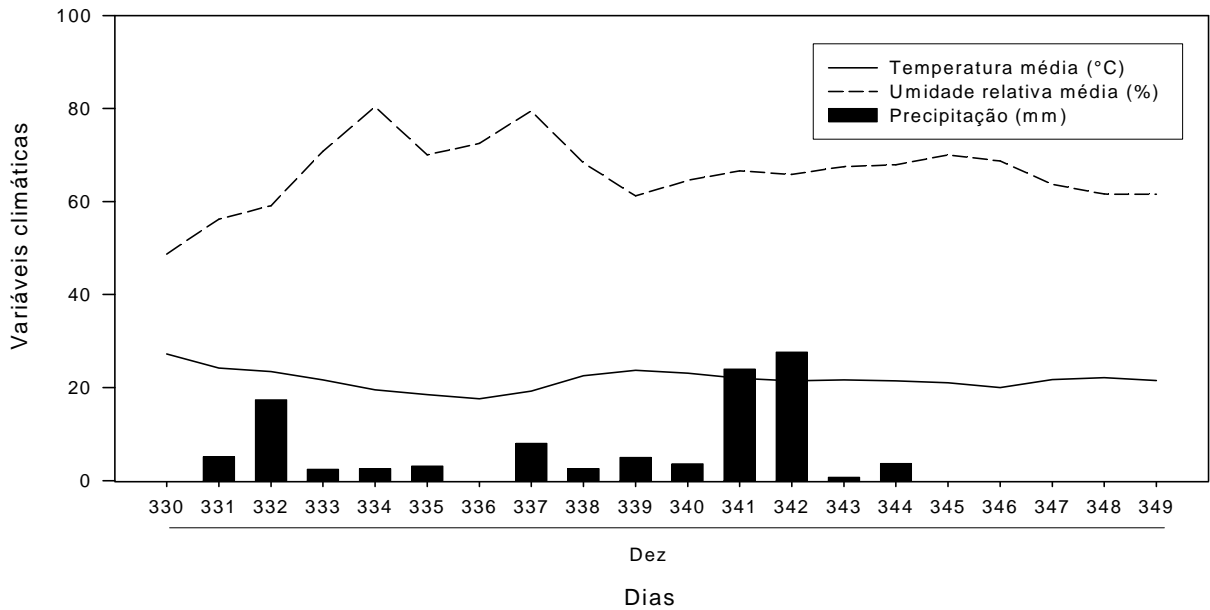


Figura 9. Variação climática ao longo do mês de dezembro de 2004 durante o primeiro ensaio de especificidade de *Phytophthora infestans* conduzido em campo.

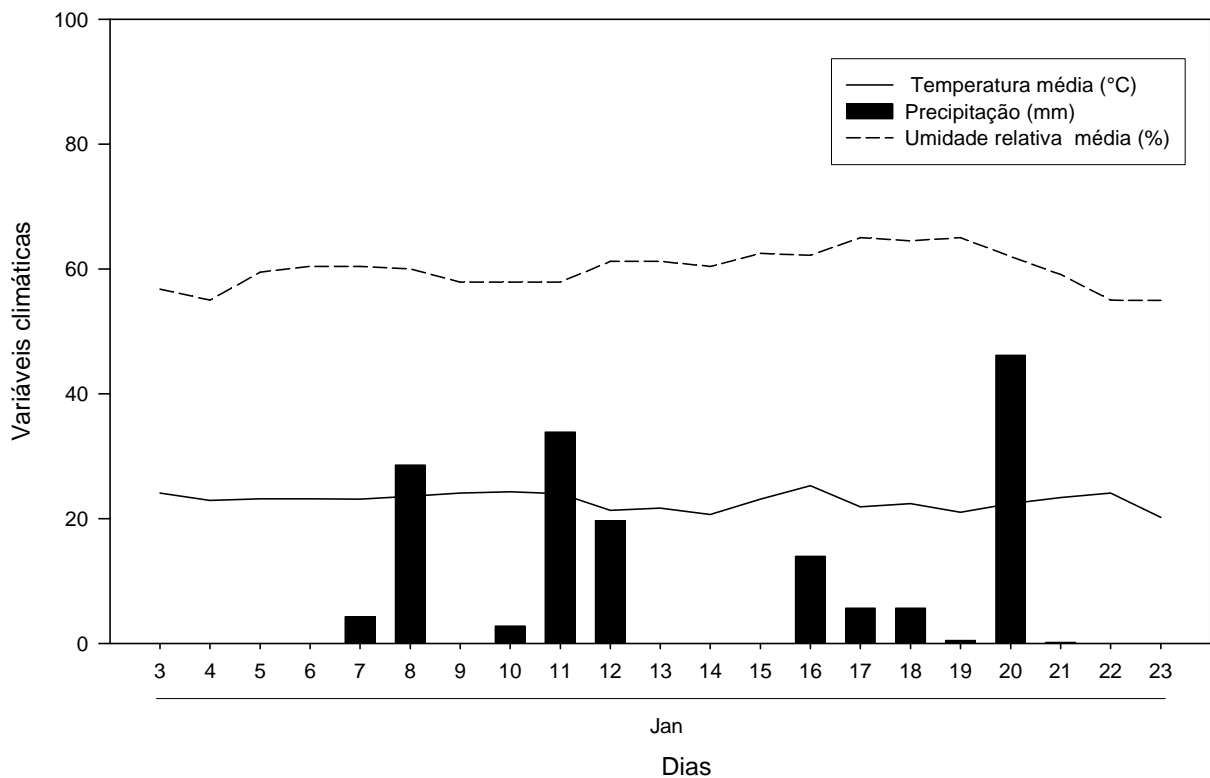


Figura 10. Variação climática ao longo do mês de janeiro de 2005 durante o segundo ensaio de especificidade de *Phytophthora infestans* conduzido em campo.

3.4 Dinâmica temporal de inóculo de *Phytophthora infestans* no ar

Esporângios de *P. infestans* foram capturados ao longo de todo o período de amostragem (Figura 11). Maior número de esporângios foi amostrado de março a julho (Figura 11). Foram capturados esporângios em 41 das 53 e em 42 das 46 semanas amostradas com as armadilhas Burkard e Rotorod, respectivamente.

Maior número de esporângios foi capturado pela armadilha Burkard no período das 06:00 às 18:00 h, no qual foram amostrados 67% dos esporângios capturados (Figura 12). No período matutino, compreendido das 06:00 às 12:00 h ocorreu maior quantidade de esporos capturados. Um pico de concentração com média de 0,19 esporos.m⁻³ ocorreu às 09:00 h e outro, com média de 0,11 esporos.m⁻³ de ar, às 17:00 h (Figura 12).

Houve correlação positiva ($r = 0,162$; $P = 0,008$) entre o número de esporângios capturados pelas armadilhas Burkard e Rotorod e entre o número de folíolos infectados de tomate e de batata ($r = 0,877$; $P < 0,0001$). O número de esporângios capturados pela armadilha Rotorod correlacionou-se ao número de folíolos infectados de tomate ($r = 0,264$; $P = 0,015$) e batata ($r = 0,529$; $P = 0,020$). Ao longo do ano, o número de esporângios capturados pela armadilha Rotorod apresentou tendência similar à do número de folíolos de tomateiro e batateira infectados (Figura 13). Não houve correlação entre o número de esporângios capturados pela armadilha Burkard e armadilhas biológicas (Tabela 2).

As temperaturas máxima e média foram negativamente correlacionadas ao número de esporângios capturados na armadilha Burkard, planta armadilha de tomate e batata (Tabela 3). A quantidade de esporângios capturados pela armadilha Rotorod e plantas de tomate e batata foi positivamente correlacionada à umidade relativa (Tabela 3). Não houve correlação dos esporângios capturados pelas armadilhas com a velocidade do vento.

A defasagem de 7 dias das variáveis climáticas foi realizada para analisar a variação do número de esporângios quantificados nas armadilhas mecânicas e no número de folíolos infectados nas armadilhas biológicas (Tabela 3). Houve correlação negativa entre a temperatura máxima, com a defasagem de 3 e 4 dias e temperatura média no terceiro dia anterior à coleta, com a quantidade de esporos capturados pela armadilha Burkard. Com a defasagem de 3, 4 e 6 dias da umidade relativa houve correlação entre a quantidade de esporos capturados pela armadilha Burkard. Não houve correlação entre a quantidade de esporângios capturados pela armadilha Rotorod e as temperaturas máxima e média. No entanto, houve correlação da umidade relativa com a defasagem de 1, 2, 3, 5, 6 e 7 dias ao número de esporângios capturados pela armadilha Rotorod. Correlação negativa

foi encontrada nos 7 dias de defasagem da temperatura máxima e média relacionados com o número de folíolos infectados de tomate. Correlação significativa foi constatada entre o número de folíolos infectados de tomate à umidade relativa ($P = < 0,0001$), não diferindo com a defasagem. Correlação negativa foi observada entre o número de folíolos infectados por *P. infestans* nas plantas de batata com a defasagem de 2 a 6 dias para temperatura média e 4, 5 e 7 dias para temperatura máxima. Houve alta correlação entre a temperatura média e folíolos de batata com defasagem de 4 dias ($P = 0,003$) e 5 dias para temperatura máxima ($P = 0,007$). Correlação significativa entre a umidade relativa e o número de folíolos infectados de batata com a defasagem de 1, 2, 4, 5 e 7 dias foi observada, sendo o quarto dia o mais significativo.

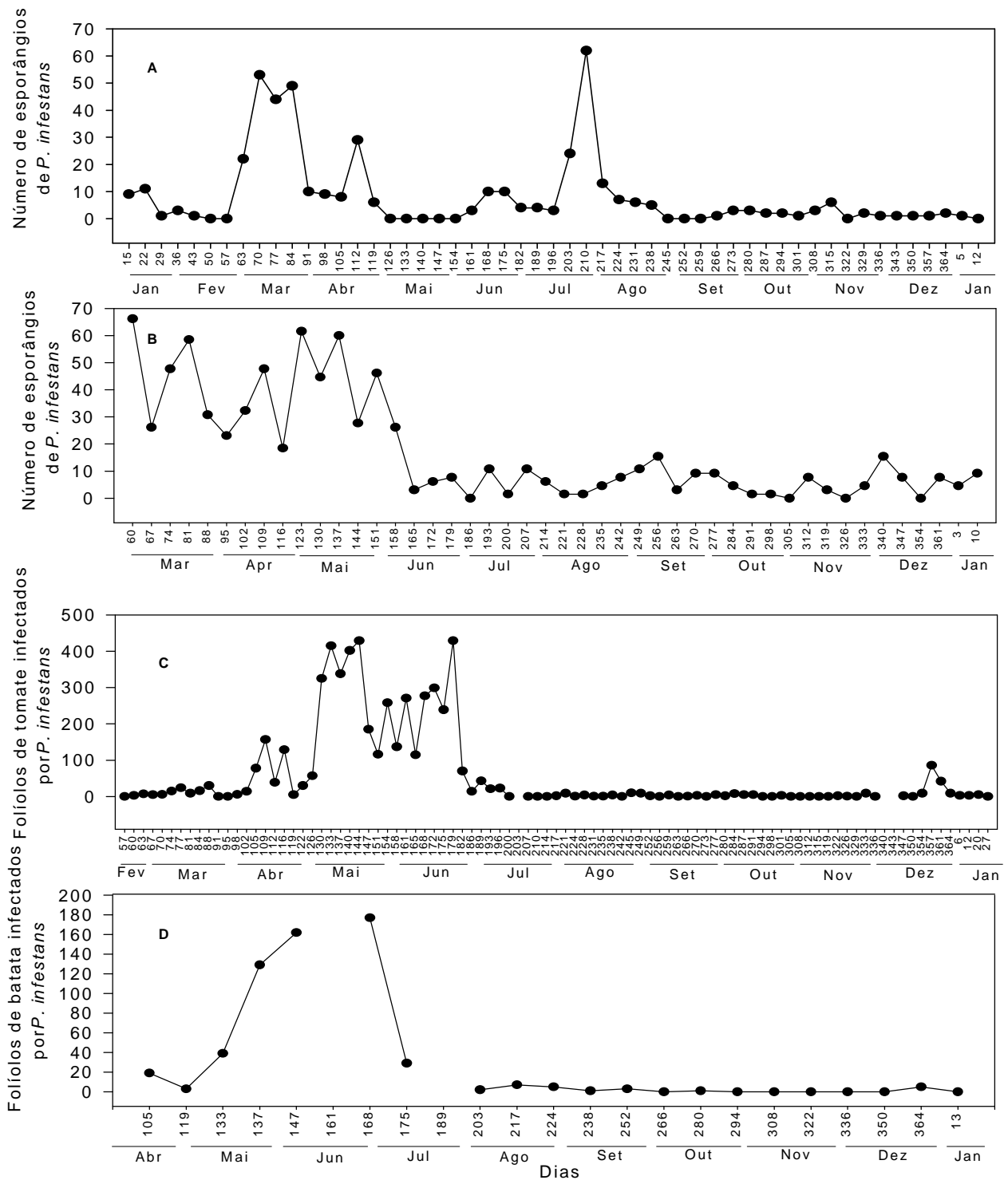


Figura 11. Número de esporângios de *Phytophthora infestans* capturados em armadilha Burkard (A) e Rotorod (B) e número cumulativo de folíolos de tomate (C) e batata (D) infectados nas plantas utilizadas como armadilha biológica. Morte de plantas armadilhas por incidência de pragas resultou em falhas no painel D.

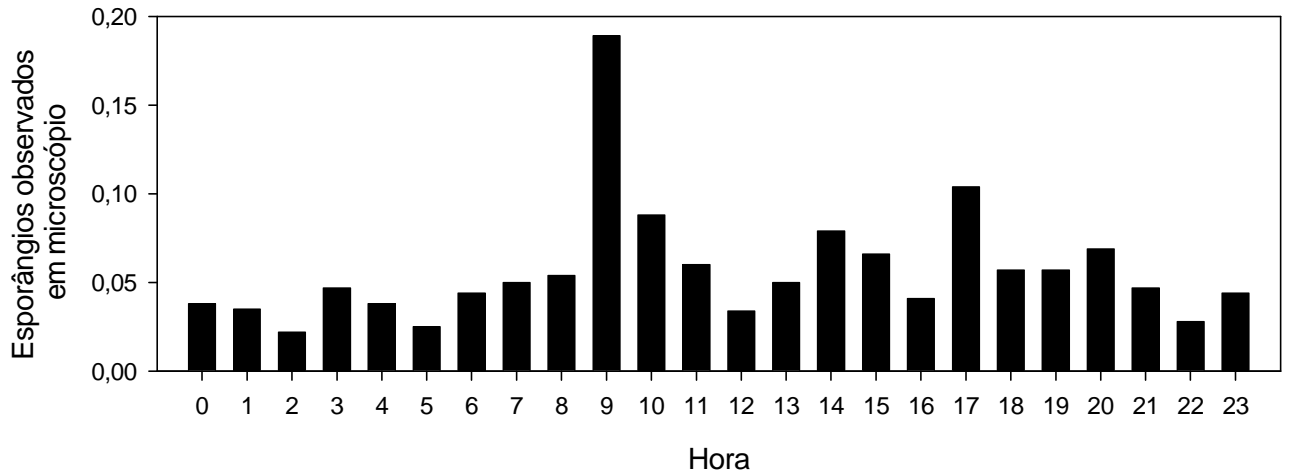


Figura 12. Média do número de esporângios de *Phytophthora infestans* amostrados pela armadilha Burkard ao longo de cada dia.

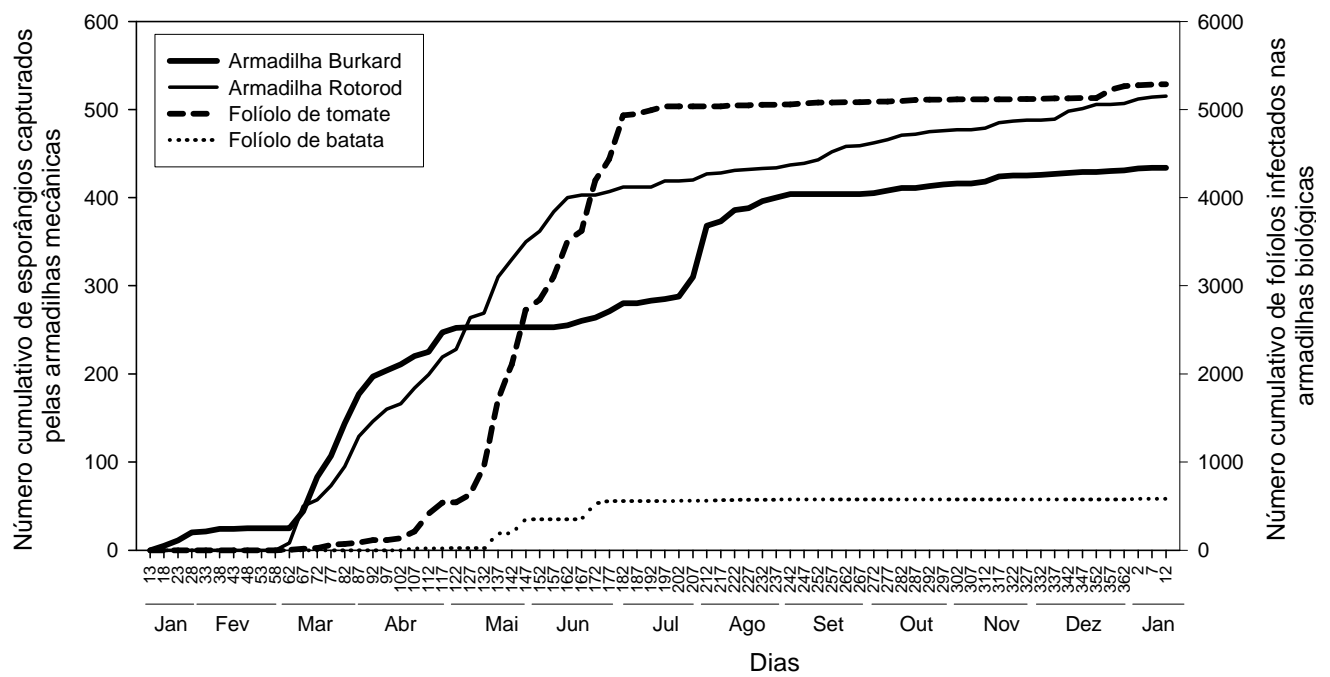


Figura 13. Número cumulativo de esporângios de *Phytophthora infestans* e número de folíolos infectados ao longo do ano. Esporângios foram capturados pelas armadilhas mecânicas Burkard e Rotorod e biológicas, plantas de batata e tomate.

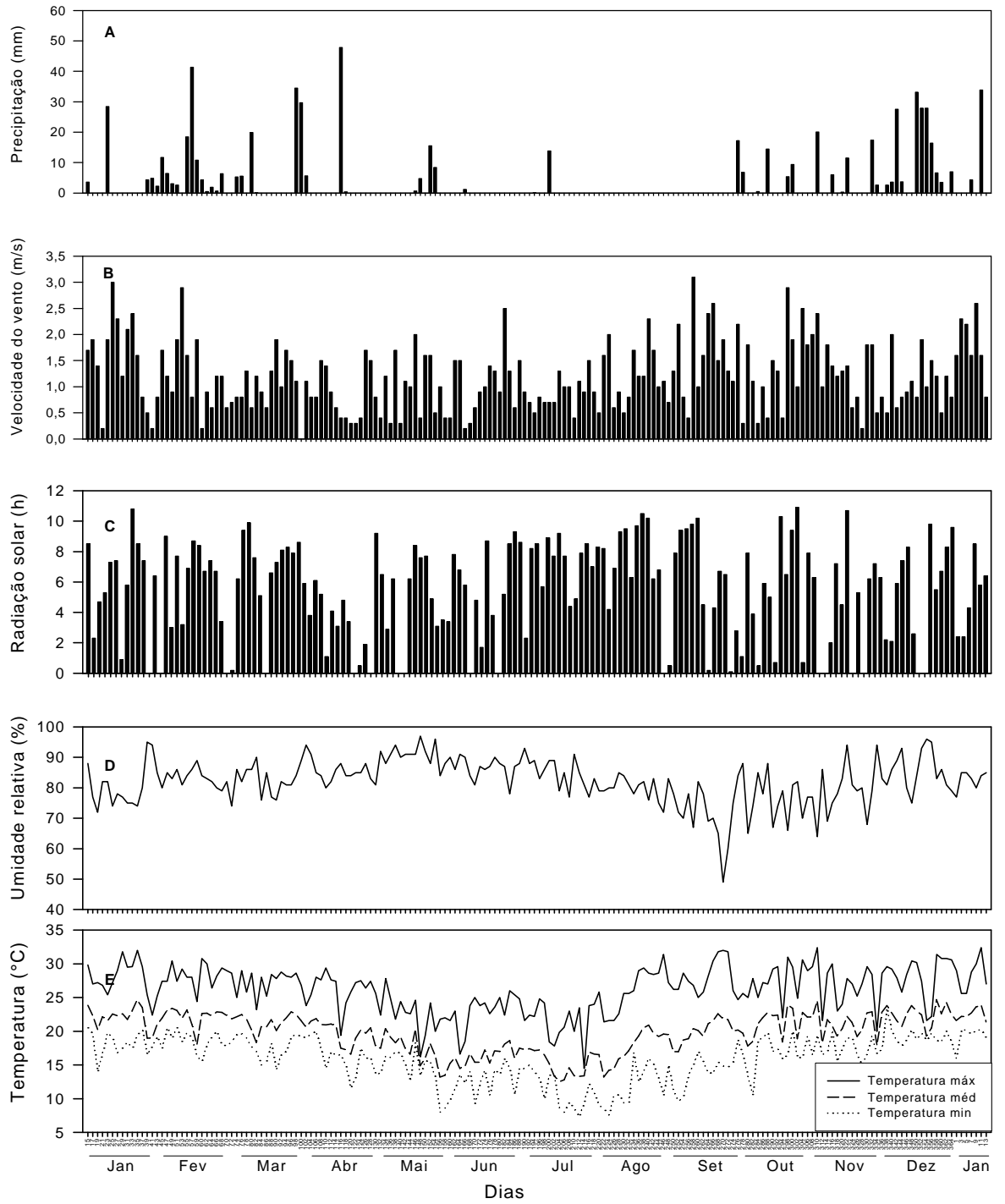


Figura 14. Valor cumulativo diário de precipitação pluviométrica (A) e média diária da velocidade do vento (B), horas de brilho solar (C), umidade relativa (D) e temperatura (E).

Tabela 2. Coeficiente de correlação (nível de significância) entre armadilhas mecânicas e biológicas.

Armadilha	Burkard	Plantas de tomate	Plantas de batata
Rotorod	0,162 (0,008)	0,264 (0,015)	0,529 (0,020)
Burkard	-	0,070 (0,537)	0,269 (0,296)
Plantas de tomate	0,070 (0,537)	-	0,877 (<,0001)

Tabela 2. Coeficiente de correlação de Spearman dos fatores climáticos e número de esporângios de *Phytophthora infestans* capturados pelas armadilhas mecânicas Burkard e Rotorod e número de folíolos infectados nas armadilhas biológicas, plantas de tomate e de batata.

	Burkard			Rotorod			Plantas de tomate			Plantas de Batata		
Dias	Tmax	Tmed	UR	Tmax	Tmed	UR	Tmax	Tmed	UR	Tmax	Tmed	UR
0	-0,177 (0,002)	-0,159 (0,004)	0,076 (0,177)	0,011 (0,855)	0,038 (0,504)	0,153 (0,008)	-0,314 (0,003)	-0,275 (0,009)	0,467 (<0,0001)	-0,548 (0,012)	-0,602 (0,005)	0,495 (0,026)
1	-0,105 (0,060)	-0,103 (0,065)	0,102 (0,069)	-0,009 (0,874)	0,050 (0,388)	0,176 (0,002)	-0,208 (0,049)	-0,214 (0,043)	0,529 (<0,0001)	-0,369 (0,110)	-0,427 (0,061)	0,620 (0,004)
2	-0,082 (0,146)	-0,075 (0,180)	0,072 (0,199)	0,033 (0,564)	0,079 (0,168)	0,197 (0,001)	-0,307 (0,003)	-0,248 (0,018)	0,511 (<0,0001)	-0,362 (0,117)	-0,503 (0,024)	0,480 (0,032)
3	-0,149 (0,008)	-0,119 (0,034)	0,160 (0,004)	0,081 (0,160)	0,074 (0,197)	0,129 (0,024)	-0,233 (0,027)	-0,209 (0,048)	0,467 (<0,0001)	-0,366 (0,112)	-0,447 (0,048)	0,363 (0,115)
4	-0,111 (0,048)	-0,094 (0,094)	0,131 (0,019)	0,084 (0,144)	0,083 (0,148)	0,086 (0,133)	-0,302 (0,004)	-0,247 (0,019)	0,496 (<0,0001)	-0,541 (0,014)	-0,637 (0,003)	0,783 (<,0001)
5	-0,109 (0,050)	-0,108 (0,053)	0,092 (0,102)	0,058 (0,317)	0,060 (0,296)	0,138 (0,016)	-0,326 (0,002)	-0,244 (0,021)	0,539 (<0,0001)	-0,581 (0,007)	-0,595 (0,006)	0,622 (0,003)
6	-0,086 (0,127)	-0,096 (0,086)	0,134 (0,016)	0,030 (0,601)	0,051 (0,376)	0,142 (0,013)	-0,282 (0,007)	-0,224 (0,033)	0,463 (<0,0001)	-0,408 (0,074)	-0,464 (0,039)	0,394 (0,086)
7	-0,035 (0,528)	-0,029 (0,603)	0,104 (0,064)	0,065 (0,255)	0,072 (0,207)	0,151 (0,008)	-0,275 (0,009)	-0,228 (0,031)	0,498 (<,00001)	-0,544 (0,013)	-0,442 (0,051)	0,504 (0,024)

Os valores entre parênteses são referentes à probabilidade e os demais valores são referentes ao coeficiente de correlação

4. Discussão

Phytophthora infestans sobreviveu em restos culturais de tomateiro, em condição de campo, por até 30 dias. A persistência e a infectividade das estruturas assexuadas de *P. infestans* no solo depende da interação das variáveis climáticas (Andrison, 1995), da presença de outros organismos (Lacey, 1965) e da composição química do solo (Andrison, 1994b). Em experimentos de campo conduzidos no Planalto Central do México e que utilizaram solo contendo esporângios advindos de safras recentes de batata, foi verificado por meio de bioensaio, que *P. infestans* sobreviveu por até 30 dias (Fernández-Pavía *et al.*, 2004). Utilizando outra metodologia, Lacey (1965) relatou tempo de sobrevivência similar, 32 dias, em solo não esterilizado. Provavelmente, em vista do baixo tempo de permanência do patógeno em restos culturais de tomate, estes não sejam fontes potenciais de inóculo relevantes, pois a decomposição proporcionada pela interação do clima e a microbiota presente no solo é rápida, principalmente em condições de clima tropical/subtropical.

Diferença marcante quanto ao tempo de sobrevivência em casa de vegetação e campo pode ser explicada pela maior oscilação de variáveis climáticas e maior diversidade da microbiota no campo. Frutos de tomate enterrados em solo úmido foi o tratamento em que a longevidade do patógeno foi maior em condição controlada, com um tempo de sobrevivência de 90 dias. Aos 90 dias da amostragem, folíolos, hastes e frutos de tomate estavam presentes na maioria dos tratamentos, exceto os folíolos enterrados em solo úmido, que foram degradados aos 60 dias de exposição em casa de vegetação. Em condições de campo, a partir dos 45 dias a decomposição do material vegetal foi evidente. O tipo de solo e o teor de umidade influenciam o tempo em que o organismo mantém a infectividade (Murphy, 1922, citado por Zan, 1962). A infectividade dos esporângios de *P. infestans* adicionados ao solo foi longa, quando em solo úmido e baixa temperatura (Zan, 1962).

A capacidade de sobrevivência do patógeno no solo está geralmente associada à capacidade de suas estruturas resistirem à inativação e degradação, pela ação da microbiota existente (Andrивon, 1994a). Diferentes substratos, como restos de caule seco de batata, grãos de aveia, cevada e trigo foram testados quanto à persistência de *P. infestans*, após serem mantidos no solo (Peterson, 1947). Além disso, percebeu-se que o patógeno foi capaz de sobreviver saprofiticamente no solo, onde conseguia esporular (Peterson, 1947). Em tubérculos de batata, a produção de esporângios foi observada 6 meses após a infecção (Hirst & Stedman, 1960). Em áreas em que havia tubérculos de batata infectados por *P. infestans* em safras passadas, ocorreram infecções principalmente na parte do caule e folhas que ficavam em contato com o solo (Hirst & Stedman, 1960). Porém, em outros estudos, o inóculo produzido em restos culturais de batata, como tubérculos infectados, não infectou plantas na safra subsequente (Darnell-Smith, 1912 citado por Peterson, 1947). No presente estudo, a velocidade de decomposição das amostras pela ação dos microrganismos e o efeito do clima diminuíram a sobrevivência do patógeno em solo em condições de campo, mas o efeito foi minimizado em condições de casa de vegetação. Com base nos resultados obtidos, acredita-se que o tempo de sobrevivência de *P. infestans* associado a restos culturais foi curto e que a contribuição deste inóculo para epidemias é reduzida, principalmente ao se considerar a quantidade de esporângios presentes no ar.

Isolados brasileiros de *P. infestans* infectaram plantas de tomate, batata, *Petunia hybrida* e *Nicotiana benthamiana*. Sintomas de requeima em *P. hybrida* já haviam sido observados no campo (Hirst & Moore, 1957) e em condição controlada (Vartanian & Endo, 1985) e apresentam novidades apenas como ocorrência para as condições e isolados brasileiros. Sintomas em *N. benthamiana* foram detectados em folíolos destacados, em condições controladas, após silenciamento pela proteína INF1 de *P. infestans* (Kamoun *et al.*, 1998). Recentemente, demonstrou-se que alguns isolados de *P. infestans* contendo a proteína INF1 foram infectivos em plantas de *N. benthamiana* cultivadas em condições de campo e casa de vegetação (Rathbone *et al.*, 2002). Para *N. benthamiana*, dois fatores parecem afetar a suscetibilidade à *P. infestans*: genótipo do patógeno e estado fisiológico das folhas. O inóculo usado no presente estudo foi composto de isolados de *P. infestans* dos grupos A1 e A2 e de origens geográficas distintas. É possível que a alta agressividade de um ou mais isolados utilizados tenha possibilitado a infecção em *N. benthamiana*. Distúrbios fisiológicos na planta também contribuem para a ocorrência de esporulação de *P. infestans* (Hirst & Stedman, 1960; Bhattacharyya & Sharma, 1976; Colon *et al.*, 1993). Em plantas de *S. dulcamara* e *S. nigrum*, ocorreram sinais do patógeno somente em partes

amarelas e senescentes da folha (Hirst & Stedman, 1960). Acredita-se que as plantas de *N. benthamiana* inoculadas no presente trabalho sofreram estresse quando transferidas da casa de vegetação para campo. Esta hipótese deve ser testada posteriormente, pois plantas crescidas em condições de campo e em bom estado fisiológico não foram inoculadas.

É possível que, em condições naturais, *N. benthamiana* seja hospedeira e fonte de inóculo para epidemias de requeima. A espécie *N. benthamiana* é encontrada em algumas áreas, entretanto ainda não foi catalogada no Brasil como planta daninha. A possibilidade de servir como possível hospedeira de ambos os grupos de compatibilidade de *P. infestans* deveria ser investigada, pois caso confirmada indicaria que neste hospedeiro poderia ocorrer a reprodução sexuada. Segundo Flier *et al.*, (2003) o inóculo gerado pela infecção causada por *P. infestans* em *S. nigrum* e *S. dulcamara* não contribuiu significativamente para epidemias de requeima em áreas produtoras de batata, porém houve formação de oósporo nestas espécies. No Brasil, fato similar pode ocorrer com *N. benthamiana*, em áreas onde esta espécie está presente.

Dentre as 23 espécies da família Solanaceae testadas neste estudo, apenas quatro foram hospedeiras de *P. infestans*. Há várias espécies relatadas como hospedeiras de *P. infestans*, mas muitos trabalhos foram realizados com folhas destacadas ou com base apenas em observações de sintomas de campo. Experimentos utilizando folhas destacadas podem confundir o diagnóstico quanto à suscetibilidade da planta alvo (Colon *et al.*, 1993). Por exemplo: observou-se formação de esporângios e esporangióforos de *P. infestans* em folhas destacadas de *S. nigrum*, associados a pequenas manchas cloróticas (Colon *et al.*, 1993); em plantas de *Poligum alatum* ocorreram sintomas e sinais de *P. infestans* na parte marginal e em alguns pontos de folhas mantidas em ambiente com alta umidade (Bhattacharyya & Sharma, 1976). Sintomas similares aos observados em *P. alatum* foram descritos em *Bupleurum maddenii* Clarke, *Erigeron multicaulis* DC, *Geranium nepalense* Sweet, *Ipomoea purpurea* Lam, *Ipomoea hederacea* Jacq, *Sonchus oleraceus* Linn, *Aster thomsonii* Clarke, *Galinsoga parviflora* Cav e *Rumex acetosa* Linn, porém sinais não foram constatados (Bhattacharyya & Sharma, 1976). Foliolos destacados sofrem alterações fisiológicas que reduzem as chances de resposta de defesa à infecção por organismos invasores. Ademais, folíolos destacados, quando inoculados com isolados de *P. infestans*, são submetidos a condições que favorecem o desenvolvimento do patógeno.

A gama de hospedeiros de *P. infestans* deve ser determinada com estudos conduzidos em condições de campo. Em um estudo com 39 espécies da família Solanaceae e nove de outras famílias em condições controladas, 11 espécies de Solanaceae (*Datura*

meteloides, *D. stramonium*, *Lycium chinense*, *Nicandra physalodes*, *Nicotiana acuminata*, *N. clevelandii*, *P. hybrida*, *Schizanthus pinnatus*, *Solanum aviculare*, *S. sarrachoides* e *S. sisymbriifolium*) foram suscetíveis ao patógeno. Quando a inoculação foi em condições de campo, apenas as plantas de tomate, batata e *S. sarrachoides* foram infectadas (Vartanian & Endo, 1985). Análises em condições de campo são preferíveis por considerarem a interação de fatores bióticos e abióticos (Flier *et al.*, 2003). Adicionalmente, o inóculo produzido em condições naturais é mais resistente às condições climáticas que aquele gerado em condições artificiais (Bashi *et al.*, 1982). Além disso, é sabido que no Brasil as duas linhagens clonais de *P. infestans* apresentam especificidade por hospedeiro: US-1 está associada a tomate e BR-1 à batata (Suassuna *et al.*, 2004). Por essa razão, a origem do inóculo poderá variar quanto à agressividade em plantas hospedeiras alternativas.

Há inóculo de *P. infestans* disponível no ar durante praticamente todo o ano. Maior número de esporângios no ar foi observado no outono-inverno, possivelmente pela maior ocorrência de epidemias de requeima e pela quantidade de plantios de tomate e batata na região. O elevado número de esporângios capturados pelas armadilhas mecânicas e o maior número de folíolos infectados de março a julho de 2004, podem ser explicados pela proximidade (cerca de 50 m da armadilha) de plantios de tomateiros altamente afetados pela requeima. Nesse período, a intensidade da requeima nos cultivos instalados na área foi alta, o que favoreceu a produção e a dispersão dos esporângios. Houve plantios sucessivos de tomate ao longo do ano e um plantio de batata no início de novembro de 2004, durante o período de amostragem de esporângios. As culturas, situadas em um raio de 40 a 100 m do local de instalação das armadilhas, podem ter contribuído como fontes de inóculo. Vale ressaltar que não houve inoculação artificial destas culturas. Esporângios de *P. infestans* podem ser transportados por ventos de 1 a 2 m.s⁻¹ a distâncias de até 20 km em menos de 3 h, e a interação velocidade do vento e concentração de esporos pode explicar a quantidade de inóculo existente no ar (Aylor *et al.*, 2001). A temperatura, a umidade relativa e o período de molhamento foliar, incluindo o efeito do orvalho, são outros fatores que contribuem para a produção e a dispersão do inóculo quando em hospedeiro suscetível (Bashi, 1982; Phukan & Baruah, 1993). O orvalho formado no dossel de plantas infectadas pelo patógeno retém o inóculo e com o aumento da temperatura os esporos são então facilmente liberados (Phukan & Baruah, 1993).

Houve diferenças quantitativas e qualitativas entre as armadilhas mecânicas utilizadas neste estudo. Oito picos acima de 40 esporângios capturados ao longo do ano foram detectados com a armadilha Rotorod, enquanto apenas três picos foram registrados

com a armadilha Burkard. Possivelmente, essa diferença deve-se ao princípio e ao tempo de funcionamento de cada armadilha. A Rotorod captura esporângios por impacto, enquanto a armadilha Burkard, por sucção. Maior número de esporângios capturados pela armadilha Burkard pode ser explicado pelo tempo de funcionamento, 24 h por dia, em comparação à Rotorod que amostrou 5 h diárias. Cabe salientar que a armadilha Burkard utilizada neste experimento funcionou apenas com 65% de sua capacidade de sucção, em função de limitação do motor, o que resultou em sucção de apenas 0,39 m³ de ar/h. Mesmo assim, não impediu a amostragem dos esporângios ao longo do dia.

Na amostragem ao longo de cada dia pela armadilha Burkard obtiveram-se dois picos de esporângios, o primeiro às 9:00 h, o de maior concentração, e o segundo às 17:00 h. Phukan & Baruah (1993) observaram um pico de concentração do inóculo às 6:00 h e outro às 17:00 h. O período de molhamento foliar, principalmente pela formação do orvalho, que retém os esporângios formados à noite (Bashi *et al.*, 1982; Phukan & Baruah, 1993), pode estar associado à alta concentração de inóculo nas primeiras horas após o nascer do sol (Rotem *et al.*, 1970; Phukan & Baruah, 1993). No decorrer do dia, a concentração do inóculo diminui em vista do aumento da temperatura e da queda da umidade relativa, o que desfavorecem a produção das estruturas do patógeno. Esta condição é revertida ao cair da tarde, e o aumento gradual da quantidade de inóculo no ar pode ser observado (Phukan & Baruah, 1993).

Plantas armadilhas foram eficientes em monitorar a dinâmica de esporângios de *P. infestans*. De julho de 2004 a janeiro de 2005, a baixa frequência de folíolos infectados nas armadilhas biológicas correlacionou-se à menor concentração de esporângios capturados pelas armadilhas mecânicas. O uso de plantas armadilhas foi importante, pois permitiu inferir sobre a viabilidade do inóculo presente na área. Esse tipo de armadilha, apesar de não permitir inferências quantitativas, pode ser útil em sistema de suporte à tomada de decisão para sistema de previsão da doença, por ser de baixo custo e de fácil implementação pelos usuários. O uso de planta sadia suscetível a um determinado patógeno pode funcionar como armadilha para estimar a quantidade de inóculo existente no campo. O tamanho e a quantidade de lesão variam com o número de esporos depositados na planta (Rotem, 1988). Estudos sobre a dispersão de conídios de *Mycocentrospora acerina* foram realizados com plantas armadilhas, situadas a diferentes distâncias da fonte de inóculo, para verificar o alcance de conídios removidos com o impacto provocado pelo respingo da gota de chuva (Evenhuis *et al.*, 1997). Além da deposição aérea do inóculo, culturas armadilhas podem ser utilizadas para detecção da

presença de esporos presentes no solo (Oehl *et al.*, 2003). Como observado no presente trabalho, plantas de tomate e batata poderão ser utilizadas para o monitoramento da requeima.

A dinâmica de inóculo de *P. infestans* ao longo de todo o ano pode afetar o controle da requeima nas condições brasileiras, diferentemente do relatado em países de clima temperado. A presença de inóculo em todos os estádios de desenvolvimento das culturas de tomate e batata é evidente. O inóculo pode ter origem tanto interna quanto externa à lavoura. Plantios sucessivos de culturas suscetíveis ao patógeno numa mesma área podem ser afetados mais precocemente, pela grande quantidade de esporângios existentes no ar, bem como por aqueles produzidos em restos culturais, apesar destes serem aparentemente menos importantes como fonte primária de inóculo. Plantios de tomate de mesa, em pequenas propriedades, podem ser instalados na mesma área ou em área contígua. Apesar de ainda não quantificado, é possível que o inóculo produzido nos restos não contribua eficientemente para início da epidemia. A grande quantidade de esporângios no ar causada por cultivos sucessivos de tomate e batata, bem como a existência de possíveis plantas hospedeiras numa região, fazem com que a disponibilidade do inóculo seja freqüente, o que constitui em constante ameaça às novas lavouras de tomate e batata. Duas estratégias devem ser adotadas para reduzir a eficiência dessas lavouras como fontes de inóculo: efetuar rotação de culturas de forma coordenada em uma região produtora e iniciar a pulverização com fungicidas protetores imediatamente após o transplântio das mudas.

5. CONCLUSÕES

O estudo realizado confirmou que o tempo de sobrevivência de *P. infestans* em restos culturais de tomate no campo e em casa de vegetação é reduzido. Considerando a permanência limitada do patógeno em restos de cultura, acredita-se que o inóculo neles produzido não contribui significativamente para o desenvolvimento de epidemias de requeima em condições brasileiras. Apenas duas espécies além do tomateiro e da batateira foram hospedeiras de *P. infestans* no campo: *P. hybrida* e *N. benthamiana*. Caso presentes no campo, essas espécies poderiam contribuir como fonte de inóculo do patógeno em áreas de produção de tomate e batata. Testes com outras espécies de plantas necessitam ser implementados, buscando a detecção de novos hospedeiros do patógeno. Esporângios de *P. infestans* podem estar disponíveis ao longo do ano, e, em algumas épocas, a concentração de inóculo é maior, pela favorabilidade ao desenvolvimento da doença e pela concentração de plantios de tomate e batata em uma região produtora. Mesmo em épocas desfavoráveis à doença, esporângios foram quantificados após a coleta nas armadilhas mecânicas e baixa frequência de infecção foi observada em plantas armadilhas de tomate e batata. A continuação destes estudos é necessária, pois a produção e a dispersão de esporângios do patógeno podem variar a cada ano, em vista de mudanças climáticas e da diversidade do patógeno. Por meio da compreensão da dinâmica de inóculo é possível determinar que épocas são propícias à ocorrência de requeima e que medidas de controle podem ser empregadas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andersson, B., Sandström, M. & Strömberg, A. Indications of soil borne inoculum of *Phytophthora infestans*. Potato Research 41: 305-310. 1998.

Andrivon, D. Dynamics of the survival and infectivity to potato tubers of sporangia of *Phytophthora infestans* in three different soils. Soil Biology & Biochemistry 26: 945-952. 1994a.

Andrivon, D. Fate of *Phytophthora infestans* in a suppressive soil in relation to pH. Soil Biology & Biochemistry 26: 953-956. 1994b.

Andrivon, D. Biology, ecology, and epidemiology of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in soil. Phytopathology 85:1053-1056. 1995.

Aylor, D. E. Relative collection efficiency of Rotorod and Burkard spore samplers for airborne *Venturia inaequalis* ascospores. Phytopathology 83: 1116-1119. 1993.

Aylor, D. E., Fry, W. E., Mayton, H. & Andrade-Piedra, J. L. Quantifying the rate of release and escape of *Phytophthora infestans* sporangia from a potato canopy. Phytopathology 91: 1189-1196. 2001.

Bashi, E., Ben-Joseph, J. & Rotem, J. Inoculum potencial of *Phytophthora infestans* and the development of potato late blight epidemics. Phytopathology 72: 1043-1047. 1982.

Bhattacharyya, S. R. S. K. & Sharma, S. R. New host of *Phytophthora infestans* in nature. Indian Phytopathology 29: 342-343. 1976.

.Bruyn, H. L. G. The overwintering of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 16: 121-140. 1926.

Caten, C. E. & Jinks, J. L. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation. *Canadian Journal of Botany* 46: 329-348. 1968.

Colon, L. T., Eijlander, R., Budding, D. J., Van Ijzendoorn, M. T., Pieters, M. M. J. & Hoogendoorn, J. Resistance to potato late blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) in *Solanum nigrum*, *S. villosum* and their sexual hybrids with *S. tuberosum* and *S. demissum*. *Euphytica* 66: 55-64. 1993.

Cooke, L. R., Carlisle, D. J., Wilson, D. G. & Deahl, K. L. Natural occurrence of *Phytophthora infestans* on woody nightshade (*Solanum dulcamara*) in Ireland. *Plant Pathology* 51: 392. 2002.

Drenth, A., Janssen, E. M. & Govers, F. Formation and survival of oospores of *Phytophthora infestans* under natural conditions. *Plant Pathology* 44: 86-94. 1995.

Erwin, D. C. & Ribeiro, O. K. *Phytophthora* disease worldwide. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, 562 p. 1996.

Evenhuis, A., Verdam, B. & Zadoks, J. C. Splash dispersal of conidia of *Mycocentrospora acerina* in the field. *Plant Pathology* 46: 459-469. 1997.

Fernández-Pavía, S. P., Grünwald, N. J., Díaz-Valasis, M., Cadena-Hinojosa, M. & Fry, W. E. Soilborne oospores of *Phytophthora infestans* in Central Mexico survive winter fallow and infect potato plants in the field. *Plant Disease* 88: 29-33. 2004.

Flier, W. G., Van den Bosch, G. B. M. & Turkensteen, L. J. Epidemiological importance of *Solanum sisymbriifolium*, *S. nigrum* and *S. dulcamara* as alternative hosts for *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 52: 595-603. 2003.

Fontem, D. A., Olanya, O. M. & Njuaem, B. F. Reaction of certain solanaceous and asteraceous plant species to inoculation with *Phytophthora infestans* in Cameroon. *Journal of Phytopathology* 152: 331-336. 2004.

Fry, W. E. & Goodwin, S. B. Resurgence of the Irish potato famine fungus. *BioScience* 47: 363-371. 1997.

Garry, G., Forbes, G., Salas, A., Pérez, W., Santa Cruz, M., Pinedo, H. M., Gonzáles, E., Rivera, M. & Nelson, R. J. Characterization of *Phytophthora infestans* colonizing different solanaceous species in Peru, with implications on the control of potato late blight. CIP Program Report. p.39-47. 2000.

Govers, F. Misclassification of pest 'fungus' puts vital research on wrong track. *Nature* 411: 633. 2001.

Harrison, J. G. & Lower, R. Effect of humidity and air speed on sporulation of *Phytophthora infestans* on potato leaves. *Plant Pathology* 38: 585-591. 1989.

Harrison, J. G. Effects of the aerial environment on late blight of potato foliage - a review. *Plant Pathology* 41: 384-416. 1992.

Hirst, J. M. & Moore, W. C. *Phytophthora infestans* on *Petunia* and *Datura*. *Plant Pathology* 6: 76. 1957.

Hirst, J. M. New methods for studying plant disease epidemics. *Outlook on Agriculture* 2: 16-26. 1958.

Hirst, J. M & Stedman, O. J. The epidemiology of *Phytophthora infestans*. *Annals of Applied Biology* 48:489-517. 1960.

Horsfall, J. C. & Barratt, R. W. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology* 35: 655. 1945.

- Kamoun, S., West, P. V., Vleeshouwers, V. G. A. A., Groot, K. E. & Govers, F. Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elicitor protein INF1. *The Plant Cell* 10: 1413–1425. 1998.
- Kirk, W. W. Tolerance of mycelium of different genotypes of *Phytophthora infestans* to freezing temperatures for extended periods. *Phytopathology* 93: 1400-1406. 2003.
- Lacey, L. The infectivity of soils containing *Phytophthora infestans*. *Annals of Applied Biology* 56: 363-380. 1965.
- Minogue, K. P. & Fry, W. E. Effect of temperature, relative humidity, and rehydration rate on germination of dried sporangia of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 71: 1181-1184. 1981.
- Mizubuti, E. S. G., Aylor, D. E. & Fry, W. E. Survival of *Phytophthora infestans* sporangia exposed to solar radiation. *Phytopathology* 90: 78-84. 2000.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T. & Wiemken, A. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2816–2824. 2003.
- Oyarzun, P. J., Pozo, A., Ordoñez, M. E. & Forbes, G. A. Host specificity of *Phytophthora infestans* on tomato and potato in Ecuador. *Phytopathology* 88: 265-271. 1998.
- Peterson, L. C. The overwintering of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary under Long Island conditions. *The American Potato Journal* 24: 188-197. 1947.
- Phukan, S. N. & Baruah, C. K. Studies on the factors influencing diurnal periodicity in dispersal, deposition and infectivity of sporangia of the late blight fungus *Phytophthora infestans*. *Advanced Plant Sciences* 6: 158-160.1993.
- Porter, L. D. & Johnson, D. A. Survival of *Phytophthora infestans* in surface water. *Phytopathology* 94: 380-387. 2004.

- Rathbone, C. D., Smart, C. D. & Fry, W. E. Isolates of *Phytophthora infestans* that infect *Petunia x hybrida* and *Nicotiana benthamiana* also produce INF1. *Phytopathology* 92: 145. 2002.
- Reis, A., Smart, C. D., Fry, W. E., Maffia, L. A. & Mizubuti, E. S. G. Characterization of isolates of *Phytophthora infestans* from southern and southeastern Brazil from 1998 to 2000. *Plant Disease* 87: 896-900. 2003.
- Rotem, J., Palti, J. & Lomas, J. Effects of sprinkler irrigation at various times of the day on development of potato late blight. *Phytopathology* 60: 839-843. 1970.
- Rotem, J. Quantitative assessment of inoculum production, dispersal, deposition, survival and infectiousness in airborne disease. *In: Kranz, J. & Rotem, J. Experimental techniques in plant disease epidemiology.* Edited by Springer-Verlang. Heidelberg, Germany. p. 69-83. 1988.
- Sato, N. Effect of sporulating temperature on the limit temperature of indirect germination of the sporangia of *Phytophthora infestans*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 60: 60-65. 1994a.
- Sato, N. Effect of water temperature on direct germination of the sporangia of *Phytophthora infestans*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 60: 162-166. 1994b.
- Shaw, D. & Wattier, R. Evolution of *Phytophthora infestans*: A global overview. Late blight managing the global threat. Global Initiative on Late Blight (GILB). Hamburg, Germany 11-13 July 2002., p.23-27. 2002.
- Suassuna, N. D., Maffia, L. A., & Mizubuti, E. S. G. Aggressiveness and host specificity of Brazilian isolates of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 53:405-413. 2004.
- Vartanian, V. G. & Endo, R. M. Overwintering hosts, compatibility types, races of *Phytophthora infestans* on tomato in Southern California. *Plant Disease* 69: 516-519. 1985.

Waggoner, P. E. Distribution of potato late blight around inoculum sources. *Phytopathology* 42: 323-328. 1952.

Wapshere, A. J. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. *Annals of Applied Biology* 77: 201-211. 1974.

Zan, K. Activity of *Phytophthora infestans* in soil in relation to tuber infection. *Transactions British Mycological Society* 45: 205-221. 1962.

Zwankhuizen, M. J., Govers, F. & Zadoks, J. C. Development of potato late blight epidemics: Disease foci, disease gradients, and infection sources. *Phytopathology* 88: 754-763. 1998.