

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS RURAIS**

FLÁVIA DACOL NICHELATI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS E ALTERNATIVOS NO
CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA (*Xanthomonas perforans*) NO
TOMATEIRO**

CURITIBANOS

2013

FLÁVIA DACOL NICHELATI

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS E ALTERNATIVOS NO
CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA (*Xanthomonas perforans*) NO
TOMATEIRO**

Projeto apresentado como exigência para obtenção de nota na disciplina de Projetos em Ciências Rurais, do Curso de Ciências Rurais, ministrado pela Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Curitibanos. Sob orientação da Prof.^a Dr.^a Mônica Aguiar dos Santos. Prof. Dr. Alexandre Tavela e Prof.^a Dr.^a Adriana Terumi Itako.

CURITIBANOS

2013

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	4
2. JUSTIFICATIVA.....	6
3. HIPÓTESE.....	7
4. OBJETIVOS.....	8
4.1 Objetivo Geral.....	8
4.2 Objetos Específicos.....	8
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
5.1 Cultura do tomateiro.....	9
5.1.1 Origem e características da cultura do tomateiro.....	9
5.2 Mancha bacteriana do tomateiro.....	11
5.2.1 Etiologia da mancha bacteriana.....	11
5.2.2 Sintomatologia da mancha bacteriana.....	12
5.2.3 Controle da mancha bacteriana.....	13
5.3 ESTROBIRULINAS.....	13
5.3.1 Piraclostrobina.....	13
5.4 CONTROLE ALTERNATIVO.....	15
5.5 PRÓPOLIS.....	16
6. METODOLOGIA.....	17
6.1 Avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Xanthomonas perforans</i> à fungicidas.....	17
6.2 Avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Xanthomonas perforans</i> à própolis.....	17
6.3 Avaliação do efeito de fungicidas e extrato de própolis sobre a mancha bacteriana, em condições de casa-de-vegetação.....	18
7. RESULTADOS ESPERADOS.....	20
8. CRONOGRAMA.....	21
9. ORÇAMENTO.....	22
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

RESUMO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) tem origem na América do Sul, é uma planta que pode se adaptar a quase todos os climas existentes, mas é alvo de diversas doenças. Dentre os fatores bióticos envolvidos na redução da rentabilidade na produção do tomateiro, as doenças causadas por fitobactérias ganham um papel de destaque, pela gravidade das enfermidades apresentadas na cultura e também pela facilidade com que se disseminam. A mancha bacteriana causada pela *Xanthomonas* é uma das doenças mais importantes do tomateiro. Por o tomate ser muito suscetível a *Xanthomonas* é comumente a utilização de grandes quantidades de agrotóxicos nas lavouras. Por causa dos problemas causados com o uso de grande quantidade de agrotóxicos no combate á *Xanthomonas*, vem se buscando novos produtos que tenham um efeito mais eficiente no combate a esses organismos causadores de doenças, como é o caso da piraclostrobina, que é um produto já utilizado no combate a doenças fúngicas no tomateiro. Há também um grande avanço em pesquisas, utilizando produtos alternativos. Nesse contexto se encaixa a própolis que já demonstra resultados positivos no combate a doenças em humanos e animais e, portanto é um produto com grande potencial para o controle de fitopatógenos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de produtos químicos a base de piraclostrobina e produtos alternativos no controle da mancha bacteriana causada pela bactéria *Xanthomonas perforans* no tomateiro. Será avaliado *in vitro* a sensibilidade da *X. perforans* a dois tipos de produtos químicos um a base de piraclostrobina e outro a base de piraclostrobina e methiram nas seguintes doses: 0; 5; 100; 500; 1000 e 5000 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, também será avaliado *in vitro* a sensibilidade da *X. perforans* a própolis nas concentrações de 0, 10%, 20%, 30% e 40%. Será realizada a avaliação efeito desses dois fungicidas e também da própolis sobre a mancha bacteriana, em condições de casa-de-vegetação seguindo as doses recomendadas para a aplicação destes produtos na cultura do tomate. Os resultados a serem obtidos com a realização deste projeto fornecerão o conhecimento sobre os potenciais efeitos que os produtos químicos a base de piraclostrobina e também da própolis têm sobre o desenvolvimento da bactéria *Xanthomonas perforans*. A proposta deste projeto será oferecida aos agricultores de pequeno porte que buscam novas técnicas para o controle da mancha bacteriana.

Palavras-chave: Tomate, *Xanthomonas perforans*, Mancha bacteriana, Piraclostrobina, Própolis

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) tem origem na América do Sul, na região entre o Equador e o norte do Chile, é uma planta tropical de altitude que pode se adaptar a quase todos os climas existentes, mas é alvo de diversas doenças, que ocasionam a redução na produtividade e na qualidade do tomate (LUIZ, 2013). Apresenta uma excelente palatabilidade e possui um baixo valor energético indicado para pessoas que se submetem a dietas hipocalóricas e também a pessoas que necessitam consumir um alimento de fácil digestão. Possui grande importância econômica, pois ele é um dos produtos hortícolas mais comercializados no mundo (LUIZ, 2013).

É um dos ingredientes preferidos em saladas, consumido na forma de suco, também como ingrediente em sopas, em conservas, na forma de extrato, e também em molho do tipo ketchup (LUIZ, 2005). Também cumpre um papel importante, pois o seu processamento é responsável por gerar mão-de-obra, desempenhando uma função social com obtenção de renda para o país (COQUEIRO, 2010).

A mancha bacteriana causada pela *Xanthomonas* é uma das doenças mais importantes do tomateiro, pelo fato de não ter variedades com resistência adequada, a eficiência do controle químico varia, por ela ter uma rápida disseminação nas lavouras em condições de alta umidade, alta temperatura (acima de 25°) e também por sementes contaminadas (QUEZADO-DUVAL et al., 2005).

Por o tomate ser muito suscetível a *Xanthomonas* é comumente a utilização de grandes quantidades de agrotóxicos nas lavouras até mesmo indiscriminadamente, sendo este um fator que eleva o custo de produção e é causador de impactos ambientais e também favorece ao aparecimento de raças com resistência (QUEZADO-DUVAL et al., 2005).

Por causa desses problemas com a utilização de agrotóxicos busca-se novas alternativas para o combate de vários patógenos. Como produtos que tenham um efeito mais eficiente no combate a esses organismos causadores de doenças, como é o caso da piraclostrobina, pois sua utilização resulta em benefícios na produtividade, porque minimiza a senescência, e também ela causa um efeito chamado de “*memory effect*” que é a persistência do efeito mesmo na ausência do produto (JADOSKI, 2012).

E também da própolis que tem demonstrado ser um produto eficiente no controle da atividade bacteriostática e bactericida em diversos gêneros de bactérias. (BIANCHINI, BEDENDO, 1997).

Por este motivo o presente trabalho visa avaliar a eficiência de produtos químicos a base de piraclostrobina e também da própolis no combate a *Xanthomonas perforans* causadora da mancha bacteriana no tomateiro.

2. JUSTIFICATIVA

A mancha bacteriana é muito frequente e se torna destrutiva em locais com elevada precipitação e umidade. Ataca o tomate em todos os órgãos da parte aérea, pois o tomate é suscetível a essa bactéria em qualquer idade (QUEZADO-DUVAL et al., 2005).

Produtos químicos a base de cobre e antibióticos são utilizados no controle da mancha bacteriana, mas depois que a doença se estabelece, há uma baixa eficiência, além de haver problemas com estirpes de bactérias resistentes (ITAKO et al., 2012).

Por isso a procura por novas tecnologias para a proteção de plantas tem levado as empresas de agroquímicos a buscar novos grupos de fungicidas. Até agora uma das maiores inovações já registradas foi à descoberta do grupo das estrobirulinas Azevedo (2003 apud LOPES, 2011). Destacam-se nesse grupo substâncias como a piraclostrobina (LOPES, 2011). As moléculas dessas substâncias são absorvidas pelas folhas de forma gradual e constante, assim estabelecendo uma proteção por um tempo mais prolongado. Tornando-se um grupo eficiente no combate contra inúmeros fitopatógenos a uma baixa concentração, assim permitindo um intervalo maior entre as aplicações Koehle et al. (2002 apud LOPES, 2011).

Pensando na substituição de produtos químicos para o combate de doenças em plantas é comum a procura de novas técnicas e novos compostos, uma alternativa é a própolis que possui atividade antimicrobiana e antifúngica. Mas a maioria dos estudos que envolvem a própolis é para o controle de patógenos em humanos, e poucos são os estudos envolvendo própolis no controle de doenças em plantas (SILVA, 2009).

Por isso o presente trabalho dedica-se a avaliar o efeito da piraclostrobina no combate à *Xanthomonas perforans*, pois este produto demonstra resultados satisfatórios no combate a fitopatógenos, e também da própolis que tem um grande potencial para ser explorado no controle a doenças de plantas.

3. HIPÓTESE

Produtos químicos a base de piraclostrobina e produtos alternativos como o própolis controlam a mancha bacteriana no tomateiro.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de produtos químicos a base de piraclostrobina e produtos alternativos no controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) no tomateiro.

4.2 Objetos Específicos

- Analisar o efeito da própolis sobre a mancha bacteriana causada pela *Xanthomonas perforans*;
- Avaliar o efeito de produtos químicos a base de piraclostrobina sobre a mancha bacteriana do tomateiro;
- Realizar avaliação em condições de laboratório e casa-de-vegetação para verificar a eficiência dos produtos químicos utilizados no controle da mancha bacteriana;
- Realizar avaliação em condições de laboratório e casa-de-vegetação para verificar a eficiência do extrato de própolis no controle da mancha bacteriana;
- Verificar o efeito de diferentes concentrações dos produtos utilizados no controle da mancha bacteriana;
- Contribuir para pesquisas a serem desenvolvidas no controle da mancha bacteriana no tomateiro.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 Cultura do tomateiro

5.1.1 Origem e características da cultura do tomateiro

O tomate (*Solanum lycopersicum L.*) é um fruto pertencente à família Solanaceae e ao gênero *Solanum*. Todas as espécies são herbáceas e autógamas (MUELLER, 2008). Suas flores são hermafroditas possuindo tamanho pequeno e cor amarelada, seus frutos são carnosos e suas sementes são pequenas e com formato reniforme Jaruaata; Fantova (1999, apud LUIZ, 2013). Suas folhas são alternadas e compostas, seu caule é redondo, macio e piloso quando está na fase jovem e quando mais velhos se tornam angulosos e fibrosos. Seu desenvolvimento se dá tanto de forma rasteira como ereta Alvarenga (2004, apud LUIZ, 2013).

O tomate teve origem na zona costeira ocidental da América do Sul, entre o Equador e o Chile, mas sua domesticação ocorreu no México onde foi muito cultivado pelos Astecas (ALMEIDA, 2006). Possui como centro de diversidade desde o Equador até o norte do Chile, desde o Oceano Pacífico até os Andes (MUELLER, 2008).

No século XVI foi introduzido na Europa, e possuía formas de frutos amarelos, onde recebeu o nome italiano de “Pomo d’Oro”. Depois disso o tomate foi difundido pelo Mediterrâneo, Norte e Centro da Europa, Espanha e Itália, onde foi muito bem aceito. Porém no restante da Europa ele foi considerado como venenoso, e então utilizado somente como ornamental (ALMEIDA, 2006). Na Europa até o século XVIII, o tomate teve seu cultivo principalmente na Itália, onde foi muito utilizado em molho para massas. Por volta do ano de 1710 o tomate chegou aos Estados Unidos, onde ficou muito popularizado, mas só por volta de 1850 que ele foi usado como alimento (MUELLER, 2008).

No Brasil o tomate foi introduzido provavelmente pelos imigrantes italianos e portugueses. A primeira seleção brasileira ocorreu na década de 40, onde foi chamada de Santa Cruz. Atualmente, várias empresas vêm desenvolvendo cultivares com altíssima genética, maior qualidade de frutos e resistência a pragas e doenças (MUELLER, 2008).

O tomate pode ser comercializado tanto fresco ou processado. O tomate industrializado se encontra na forma de concentrado, enlatado ou desidratado. A partir do concentrado são fabricados vários produtos como molhos, ketchup e sopas (ALMEIDA, 2006).

Para o melhor desenvolvimento da cultura do tomate recomendam-se temperaturas entre 18 e 23°C, pois temperaturas inferiores a 12°C podem afetar a frutificação, porque há

um maior número de abortamento de flores e também um menor crescimento das raízes. Já em temperaturas superiores a 32°C, há uma predisposição das plantas as doenças fúngicas e bacterianas, como também alta taxa de abortamento de flores (MUELLER, 2008).

O tomate faz parte da dieta alimentar da maioria dos brasileiros, pois tem uma grande importância alimentar, porque seu fruto é muito nutritivo e saudável, sendo fonte de várias vitaminas e minerais (ITAKO, 2011).

A concentração da produção mundial de tomate se dá especialmente na Ásia. Na safra mundial de 2009/10 apenas a China e Índia responderam a 37% da produtividade e por 34,4% da área plantada. Já na Europa destaca-se a Turquia, Itália e Espanha, a última tendo um rendimento médio de 74,0 t/ha. Na África, destacaram-se Egito e Nigéria e na América do Norte, destacaram-se Estados Unidos e México (CEPA, 2012).

O mercado de tomate é concentrado em poucos países, tanto em exportações quanto em importações. Alguns países como o Egito (96,75 kg/habitante/ano), Grécia (94,26 kg/habitante/ano) e Líbia (93,52 kg/habitante/ano) tem um elevadíssimo consumo per capita, que em boa parte está relacionado com uma culinária baseada no consumo de produtos derivados que demandam grande quantidade de tomate in natura (CEPA, 2012).

Na América do Sul, o Brasil se destaca como o maior produtor, mas mundialmente ocupa uma representação pequena, na safra 2009/10 respondeu por apenas 2,5% da produção mundial e 1,4% da área plantada, mas, entretanto, está entre os países que alcançam as maiores produtividades (CEPA, 2012).

A produção nacional esta concentrada nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde estas representaram cerca de 70% da safra 2011/12. O Sul respondeu por 15,8% da produção brasileira da safra 2011/12. São Paulo e Goiás corresponderam por 49,2% da produção e por 42,2% da área plantada da safra 2011/12. Os estados com maior produtividade foram Goiás (80 t/ha), seguido por Santa Catarina (75,3 t/ha) e pelo Rio de Janeiro (74,7 t/ha) (CEPA, 2012).

Mais especificamente em Santa Catarina a produção de tomate na safra de 2010/11 teve uma área plantada de 2.863 hectares, e uma produção de 187.900 toneladas, as regiões Oeste, Serrana e de Florianópolis concentram quase a totalidade da área plantada e da produção estadual. Caçador destaca-se por ser o município com maior área plantada, e maior produção do Estado, com mil hectares plantados e as 85 mil toneladas, correspondentes a 35% da área plantada e 45% da produção da safra catarinense 2010/11 (CEPA, 2012).

Já foram relatadas em todo o mundo mais de 200 doenças no tomateiro provocadas por diversos agentes bióticos ou abióticos. Esta alta incidência de doenças ocorre por diversos

motivos como, por exemplo, a variação climática e também as diferentes formas de cultivo (LOPES; SANTOS, 1994).

Dentre os fatores bióticos envolvidos na redução da rentabilidade na produção do tomateiro, as doenças causadas por fitobactérias ganham um papel de destaque, (MALAVOLTA, 2004) pela gravidade das enfermidades apresentadas na cultura e também pela facilidade com que se disseminam (ITAKO, 2011).

Entre as bactérias de ocorrência no Brasil na cultura do tomateiro destacam-se: *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora*, e espécies de *Xanthomonas* (MALAVOLTA, 2004).

5.2 Mancha bacteriana do tomateiro

5.2.1 Etiologia da mancha bacteriana

Tem-se conhecimento atualmente de quatro espécies de *Xanthomonas* que causam a mancha bacteriana no tomateiro, são estas: *Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Xanthomonas perforans* e *Xanthomonas gardneri*. Jones et al. (2004, apud ITAKO, 2011). A distinção destas é dada por meio de testes bioquímicos e moleculares, e todas elas têm ocorrência no Brasil. A *Xanthomonas* é uma bactéria gram-negativa, baciliforme, que pode formar cápsula e se movimenta através de flagelo polar. As colônias possuem coloração amarela quando submetidas a extrato de carne (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

As epidemias são favorecidas por condições de alta umidade onde ocorre a disseminação, multiplicação, penetração e colonização do hospedeiro (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

A mancha bacteriana é favorecida em temperaturas entre 20°C e 30°C, tornando-se mais severas em locais onde ocorrem chuvas associadas a ventos fortes. Ataca todos os tecidos aéreos da planta causando a redução da produtividade, pois destrói o tecido foliar, derruba as flores e frutos em formação, além de ter a qualidade dos frutos comercializados comprometidos (LOPES; SANTOS, 1994). Sua disseminação ocorre por respingos de água da chuva ou irrigação (KUROZAWA; PAVAN, 2005), e também por mudas ou sementes infectadas (LOPES; SANTOS, 1994).

A bactéria penetra na planta através dos estômatos ou ferimentos causados por equipamentos, ou danos causados pelo vento (LOPES; SANTOS, 1994). Após a penetração,

mesmo tendo a umidade do solo e do ar baixa, a bactéria se multiplica e provoca um leve amarelecimento seguida de necrose internerval nos folíolos (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Em condições de campo a doença pode causar perdas de até 52% na produção de tomate. Essa doença tem por sintomas lesões necróticas irregulares na parte aérea da planta, amarelecimento e morte da folhas, dando um aspecto de planta queimada (QUEZADO-DUVAL et al., 2012).

Podem ser constatadas após poucas horas de chuva mais pesada áreas com encharcamento na face inferior dos folíolos, geralmente as folhas medianas e velhas são as mais afetadas (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

A *Xanthomonas* pode sobreviver em restos de cultura e em outras plantas hospedeiras como, por exemplo: pimentão, berinjela, batateira, *Sollanum nigrum*, *Datura* ssp. e *Physalis* ssp. Nestas culturas a bactéria pode sobreviver como epífita, dificilmente causando lesões em seus órgãos (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Há raças de *Xanthomonas* que são especializadas em uma ou outra espécie de hospedeiro, o que significa que uma alta incidência da doença no plantio de tomateiro, não implica na alta incidência em outros plantios realizados posteriormente de outro hospedeiro (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Ela se torna uma doença de difícil controle, pois os produtos químicos usados para combatê-la possuem uma eficiência variável e também há poucos cultivares que apresentam resistência adequada (NASCIMENTO et al., 2013).

5.2.2 Sintomatologia da mancha bacteriana

A mancha bacteriana possui como sintomas manchas mais ou menos circulares, de coloração marrom, espalhadas no limbo foliar e nas bordas. As lesões possuem uma aparência encharcada sob alta umidade do ar ou em presença de orvalho. Quando muito atacada na planta pode ocorrer o amarelecimento e secagem das folhas. O que normalmente acontece é o surgimento desses sintomas primeiramente nas folhas de baixo. Quando o ataque é nas partes florais ocorre intensa queda das flores, já nos frutos as lesões são ásperas e podem apresentar um halo branco (MUELLER, 2008), mas à medida que a lesão aumenta esse halo desaparece e o que se vê é uma cor marrom-clara com bordas um pouco elevadas (LOPES; SANTOS, 1994).

5.2.3 Controle da mancha bacteriana

Para o controle dessa doença o que se recomenda é a utilização de sementes de boa qualidade, e se as sementes tiverem alguma suspeita de contaminação pode-se utilizar água quente entre 50°C por 25 minutos (LOPES; SANTOS, 1994). Recomenda-se evitar o plantio em áreas de baixada onde ocorra neblina, realizar uma adubação equilibrada, fazer uso de espaçamentos que proporcionem um arejamento maior nas plantas (MUELLER, 2008). Também recomenda-se fazer a rotação de culturas, e dar preferência as gramíneas, evitar plantar próximo a plantios mais velhos de tomate ou pimentão, evitar a irrigação por aspersão, lavar e desinfetar os implementos utilizados, e também a aplicação de produtos químicos como fungicidas a base de cobre e antibióticos (LOPES; SANTOS, 1994). Como aplicação preventiva os produtos indutores de resistência tem demonstrado boa eficiência, também se recomenda evitar o uso de plantas nativas que sejam hospedeiras da bactéria, a utilização de fungicidas cúpricos com carbamatos também podem ser usados no controle (MUELLER, 2008).

Em regiões e épocas com alta umidade deve escolher variedades com algum nível de resistência. Para tomateiro rasteiro conduzidos em épocas chuvosas é recomendado o plantio de variedades e híbridos que tenha uma alta capacidade de brotação e recomposição da parte aérea, como por exemplo, híbridos de Roma VF, Agrocica 7 e 8 e IPA-5, pois eles conseguem suportar a alta incidência da doença até os 50 dias após a semeadura, sem ter grande perda na produtividade. Os híbridos de tomate industrial mais plantados no Brasil ultimamente apresentam níveis intermediários de resistência a mancha bacteriana. A resistência a mancha bacteriana é dada por vários genes, por isso, é chamada de poligênica. Podem ser citados como genótipos resistentes: Ontário 7710, Agrocica 30, *L. esculentum* (PI 126452), entre outros (KUROZAWA; PAVAN, 2005).

Outra possibilidade é o uso de produtos que já estão registrados para a cultura do tomateiro, como os produtos para controle de doenças fúngicas, como por exemplo, aqueles do grupo das estrobirulinas, que podem apresentar potencial para o controle da mancha bacteriana Koehle et al. (2002, apud ITAKO, 2011).

5.3 ESTROBIRULINAS

5.3.1 Piraclostrobina

As companhias de agroquímicos têm buscando constantemente novos grupos de fungicidas utilizados na proteção de plantas, visando isso, uma grande inovação é a utilização

do grupo químico das estrobirulinas, onde os fungicidas desse grupo são produzidos por *Basidiomycetes*, mas também há estrobirulinas produzidas por um membro dos *Ascomycetes* (LOPES, 2011).

O uso deste grupo demonstra ser vantajoso, pois possui uma ação positiva na fisiologia das plantas, denominado de “efeito fisiológico” onde:

As moléculas dos compostos pertencentes ao grupo das estrobirulinas são absorvidas pelas folhas de forma gradual e constante, conferindo uma proteção na superfície por tempo mais prolongado e difundindo-se pela folha. Com o aumento da umidade (orvalho, pulverização, chuva, etc.), a redistribuição superficial e a absorção das moléculas são incrementadas Venancio; et al. (2004 apud LOPES, 2011, p. 12).

Estes mesmos autores relatam que essa molécula demonstra vários efeitos fisiológicos como o efeito verdejante, influências na regulação hormonal, assimilação de carbono e nitrogênio, retardo na senescência, estresse oxidativo em plantas e indução de resistência a vírus.

De acordo com Töfoli (2002), as moléculas de estrobirulinas atuam positivamente sobre a fisiologia das plantas, pois aumenta a atividade da enzima nitrato redutase, reduzem a produção de etileno e aumentam os níveis de clorofila. Esses efeitos contribuem para que as plantas sofram menos estresse no campo, o que resulta na maior qualidade e rendimento das colheitas.

Segundo Jabs (2004 apud LOPES, 2011) quanto mais cedo for aplicada a estrobirulina, melhor será a resposta fisiológica da planta sob condições de estresse.

Outro acontecimento que ocorre com a utilização das estrobirulinas é chamado de “*memory effect*” (efeito de memória), que é a persistência do efeito mesmo na ausência do produto (JADOSKI, 2012).

De acordo com Fagan (2007), a utilização da piraclostrobina ocasiona um acréscimo na produtividade de grãos de soja e também altera a atividade fisiológica das plantas. Na variedade *Monsoy-8008-RR* a estrobirulina piraclostrobina incrementou a taxa fotossintética e a atividade da enzima nitrato redutase, também diminuiu a taxa respiratória.

Nas vagens analisadas houve um aumento tanto na taxa assimilação bruta de CO₂ quanto na taxa de assimilação líquida de CO₂, também houve um aumento na massa de grãos. Na variedade *BRS 245 RR* a aplicação de piraclostrobina aumentou o acúmulo do potencial de assimilação bruta de carbono tanto na planta quanto nas vagens e também um aumento na massa seca. A aplicação da piraclostrobina aumenta a atividade da enzima nitrato redutase e também a taxa fotossintética até 7 dias após a aplicação, já para a transpiração e condutância estomática, esse efeito ocorre até 3 dias após a aplicação.

Os fungicidas que pertencem ao grupo das estrobirulinas atuam através da inibição da respiração mitocondrial, onde ocorre o bloqueio da transferência de elétrons entre o citocromo b e o citocromo c1, interferindo assim na produção de ATP, e também afetam as variáveis fisiológicas, bioquímicas e fenométricas das culturas (JADOSKI, 2012).

Segundo Itako (2011) a piraclostrobina induz a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase no tomateiro, e que também está envolvida com os mecanismos de indução de resistência ao crescimento bacteriano.

A utilização de produtos químicos a base de piraclostrobina mostra ser uma alternativa de controle para a mancha bacteriana, pois conseguiu reduzir significativamente a severidade da doença (ITAKO, 2011).

5.4 CONTROLE ALTERNATIVO

Sistemas alternativos de produção de alimentos são divididos em vários seguimentos como agricultura orgânica, biodinâmica, manejo racional entre outros. O que essas linhas de pensamento têm em comum é que todas elas buscam a diminuição da utilização de agrotóxicos para o controle de doenças (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Um conceito que se deve saber para trabalhar com agroecologia é o conceito de agrobiodiversidade que leva em consideração as dimensões de diversidade nos métodos de manejo respeitando a diversidade de espécies e sua diversidade genética. Ao demonstrar a importância da agrobiodiversidade demonstra-se também a importância para a sustentabilidade da diversidade genética e de espécies presentes nos agroecossistemas, sejam plantas, agentes de biocontrole ou patógenos, mas também aspectos culturais das comunidades locais (DAL SOGLIO, 2004).

No manejo de doenças em agroecossistemas, deve-se levar em consideração a maior redução possível de práticas que possam causar distúrbios e redução da biodiversidade, como por exemplo, o uso de venenos (DAL SOGLIO, 2004).

Com isso há, portanto cultivos mais sustentáveis, e menos dependentes do uso de agrotóxicos, objetivando aumentar e sustentar as interações biológicas, ao invés de simplificar e reduzir essas interações (BETTIOL; GHINI, 2004).

Quando comparados aos agrotóxicos, métodos alternativos conseguem eliminar os riscos de contaminação ambiental, à saúde humana e animal, causam menos impacto à biodiversidade porque geram menores desequilíbrios biológicos por praticamente não interferirem nas populações não-alvo (BETTIOL [2013?]).

5.5 PRÓPOLIS

Própolis é uma resina obtida através das abelhas, onde é muito utilizada na medicina popular, entre as propriedades contidas na própolis destacam-se atividades antialérgicas, anti-inflamatória, antimicrobiana entre outras. A atividade antimicrobiana é muito importante, pois seu efeito bactericida e fungicida é indispensável para a preservação da vida na colmeia (PEREIRA, 2011).

Na área de fitopatologia, estudos mostram que a própolis tem potencial para inibir o crescimento da bactéria *Erwinia amylovora* o que evidencia a presença de substâncias na própolis inibitórias a este patógeno. De acordo com a literatura a própolis é um composto que pode ser usado como bactericida ou bacteriostático (BIANCHINI; BEDENDO, 1998).

De acordo com Bianchini; Bedendo, (1998) a própolis se mostrou eficiente para o controle das seguintes bactérias: *A. tumefaciens*, *C. michiganensis* e *X. axonopodis*, onde tiveram seu desenvolvimento totalmente inibido e também para a bactéria *E. chrysanthemi* que teve seu crescimento reduzido. Esses dados foram obtidos em meio de cultura contendo 10% de própolis. Esses resultados demonstram que as bactérias fitopatogênicas também são sensíveis às substâncias antibióticas presentes na própolis, assim como ocorrem com bactérias que atacam os homens e os animais.

A comprovação de que o extrato aquoso de própolis inibe o desenvolvimento de bactérias fitopatogênicas, indica que esse composto pode ser usado no combate a doenças de plantas de origem bacteriana (BIANCHINI; BEDENDO, 1998).

Conforme Silva (2009) esse potencial da própolis é atribuído pela sua complexa composição química, que tem como um fator a sazonalidade, pois seus compostos dependem do local de origem, da espécie vegetal na qual a abelha coletou a resina, da época do ano em que é colhida e da espécie da abelha.

Silva (2009) relata que a metodologia usada na extração influencia diretamente nas propriedades biológicas da própolis, outro fator a considerar é o grupo a qual essa bactéria pertence, pois há diferenças na atuação da própolis frente às bactérias Gram negativas e Gram positivas. Contudo a própolis apresenta grande potencial antibacteriano e é um produto que é merecedor de mais estudos na área da fitopatologia.

6. METODOLOGIA

6.1 Avaliação da sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas perforans* à fungicidas

Será utilizado um isolado de *X. perforans* proveniente de tomateiro (Tom-3051) da coleção de bactérias fitopatogênicas do Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP.

Essa bactéria será cultivada em meio NSA (nutriente-sacarose-ágar), pelo período de 72 h, a 28°C. Após a incubação, será realizada a suspensão bacteriana em água destilada e esterilizada (concentração 10^8 UFC.mL⁻¹).

Para a avaliação do efeito *in vitro* dos produtos químicos será preparado o meio de cultura (NSA) contendo as concentrações de 0; 5; 100; 500; 1000 e 5000 µg. mL⁻¹ de: piraclostrobina e methiram + piraclostrobina.

As suspensões estoques dos produtos serão preparadas em água destilada e esterilizada e retirada alíquotas das suspensões e aderidas ao meio NSA autoclavado em estado fundente na temperatura de 50°C, para a obtenção das concentrações desejadas. Depois serão vertidos os meios em placas de Petri (20 mL/placa). Após 48h do preparo do meio de cultura será realizada a repicagem de 4 gotas (15 µL) por placa da suspensão bacteriana (10^8 UFC.mL⁻¹) na superfície do meio de cultura (5 placas por concentração de cada produto) depois as plantas serão incubadas por 48h a 28°C. Em seguida vão ser avaliadas a presença (+), ou a ausência (-) do crescimento de colônias na superfície do meio de cultura onde as gotas da suspensão bacteriana foram depositadas.

6.2 Avaliação da sensibilidade *in vitro* de *Xanthomonas perforans* à própolis

A própolis utilizada será obtida de produtores rurais da região de Curitiba- SC. Onde a mesma será submetida a testes para avaliar sua composição, para posterior classificação. A bactéria *X. perforans* será cultivada em meio NSA (nutriente-sacarose-ágar), pelo período de 72 h, a 28°C. Após a incubação, será realizada a suspensão bacteriana em água destilada e esterilizada (concentração 10^8 UFC.mL⁻¹).

A suspensão de própolis será obtida por trituração de 500g de própolis bruto em 1 litro de água destilada, por 3 minutos, utilizando um liquidificador industrial, e em seguida a suspensão será filtrada em funil de plástico com gaze.

O meio de cultura que será utilizado é NSA, contendo as concentrações iniciais de própolis, da ordem de 0, 10%, 20%, 30% e 40%. Havendo o controle total com a

concentração de 10%, serão realizados testes com concentrações menores como: 1%, 2%, 2,5%, 5% e 7%. Após será realizada a esterilização do meio de cultura em autoclave. Após 48h do preparo do meio de cultura será realizada a repicagem de 4 gotas (15 µL) por placa da suspensão bacteriana (10^8 UFC.mL⁻¹) na superfície do meio de cultura. Serão utilizadas cinco placas tanto para a testemunha como para os tratamentos, onde cada placa representará uma repetição.

A avaliação será feita visualmente no terceiro dia após a repicagem, através da observação do desenvolvimento das colônias, tomando-se como padrão as colônias crescidas no meio sem própolis. As diferenças observadas no crescimento das colônias das bactérias, nos meios contendo diferentes concentrações de própolis, serão evidenciadas pelo sinal (-) designando ausência de crescimento, (+) para o crescimento reduzido, (++) para o crescimento médio e (+++) para crescimento ótimo das colônias.

6.3 Avaliação do efeito de fungicidas e extrato de própolis sobre a mancha bacteriana, em condições de casa-de-vegetação

Para avaliar a severidade da mancha bacteriana no tomateiro, sementes da variedade Santa Clara e Débora Max vão ser semeadas em bandeja de poliestireno expandido contendo substrato.

Aos 25 dias após a germinação, serão transplantadas duas plantas para um vaso de 3L de capacidade contendo a mistura de terra, esterco curtido e areia na proporção 3:2:1, e acrescentado 50g de calcário dolomítico e 100g de adubo mineral 4 -14-8, para cada 100L da mistura.

Após 15 dias do transplântio, as plantas de tomate serão pulverizadas com os seguintes produtos: Comet (piraclostrobina), Cabrio Top (metiram+piraclostrobina) e extrato de própolis, aplicando as melhores doses obtidas nos testes *in vitro*. Após três dias da pulverização as plantas serão inoculadas com a suspensão bacteriana de *X. perforans* (10^6 UFC/mL). Em seguida serão mantidas em câmara úmida desde 24 horas antes até 24 horas após a inoculação. A casa-de-vegetação utilizada será fornecida pela universidade.

A severidade da doença será avaliada pela escala diagramática da área foliar lesionada conforme Mello et al. (1997). As avaliações serão realizadas aos 8, 11, 14, 17 e 20 dias após a inoculação. Com os valores de severidade obtidos será calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme Campbell e Madden (1990). Serão obtidos os valores de severidade, para posteriores análises estatísticas.

O delineamento experimental utilizado será inteiramente casualizado em esquema fatorial contendo 5 tratamentos (2 produtos químicos, extrato de própolis, testemunha inoculada e testemunha sem inoculação) e 7 repetições, sendo cada parcela constituída por um vaso contendo 2 plantas cada. Os dados serão submetidos à análise de variância, e análise de probabilidade a 5%.

7. RESULTADOS ESPERADOS

Com a realização deste projeto espera-se obter conhecimentos dos potenciais efeitos que os produtos químicos a base de piraclostrobina e do extrato de própolis têm sobre o desenvolvimento da bactéria *Xanthomonas perforans* causadora da mancha bacteriana.

Também obter resultados satisfatórios referentes às concentrações utilizadas, objetivando o controle da *X. perforans* nas menores concentrações testadas.

Espera-se com a realização deste trabalho que os resultados encontrados venham a ser publicados em eventos de caráter científico.

E que contribua para pesquisas a serem desenvolvidas no controle da mancha bacteriana no tomateiro.

9. ORÇAMENTO

Discriminação	Quantidade	Valor Unitário R\$	Valor Total R\$
Própolis Bruto	2	R\$ 80,00	R\$ 160,00
Meio de cultura NSA (nutriente-sacarose-ágar)	2	R\$ 288,00	R\$ 576,00
Fungicida Cabrio Top	1	R\$ 50,00	R\$ 50,00
Fungicida Comit	1	R\$ 50,00	R\$ 50,00
Alça de Drigalsky	2	R\$ 2,10	R\$ 4,20
Becker de 250 mL	10	R\$ 4,90	R\$ 49,00
Becker de 50 mL	10	R\$ 4,20	R\$ 42,00
Erlenmeyer graduado 1 L	4	R\$ 16,93	R\$ 67,72
Erlenmeyer graduado 250 mL	20	R\$ 6,00	R\$ 120,00
Lamparina de vidro	2	R\$ 15,00	R\$ 30,00
Placas de Petri	200	R\$ 3,00	R\$ 600,00
Proveta graduada de 100 mL	2	R\$ 9,83	R\$ 19,66
Proveta graduada de 50 mL	4	R\$ 8,73	R\$ 34,92
Algodão	1	R\$ 12,00	R\$ 12,00
Caixa de Fósforos	2	R\$ 3,31	R\$ 6,62
Caneta Esferográfica	4	R\$ 0,90	R\$ 3,60
Caneta Marcadora Plástico e Vidro	4	R\$ 1,80	R\$ 7,20
Compressa de Gaze	1	R\$ 31,25	R\$ 31,25
Funil de Plástico	3	R\$ 2,83	R\$ 8,49
Luvas de látex sem pó (tamanho M)	1	R\$ 19,00	R\$ 19,00
Papel de Alumínio	1	R\$ 8,44	R\$ 8,44
Saco Plástico Transparente	1	R\$ 14,60	R\$ 14,60
Parafilm	1	R\$ 124,28	R\$ 124,28
Peneira	2	R\$ 6,00	R\$ 12,00
Pipeta de Pasteur 3 mL	1	R\$ 25,84	R\$ 25,84
Ponteira 0 – 200 µL	1	R\$ 8,80	R\$ 8,80
Ponteira 100 – 1000 µL	1	R\$ 64,80	R\$ 64,80
Álcool Etilico Absoluto	10	R\$ 10,45	R\$ 104,50
Alça bacteriológica	2	R\$ 118,13	R\$ 236,26
Bandeja de 8 L	4	R\$ 5,46	R\$ 21,84
Cabo de Kolle	2	R\$ 23,86	R\$ 47,72
Câmara de Fluxo Laminar *	1	R\$ 11.200,00	R\$ 11.200,00
Câmara Incubadora BOD*	2	R\$ 5.995,00	R\$ 11.990,00
Espátula	2	R\$ 8,66	R\$ 17,32
Micropipeta automática 10 – 100 µL	2	R\$ 110,00	R\$ 220,00
Micropipeta automática 100 – 1000 µL	2	R\$ 110,00	R\$ 220,00
Microscópio estereoscópio*	1	R\$ 1.499,00	R\$ 1.499,00
Bandeja de poliestireno expandido	2	R\$ 15,00	R\$ 30,00
Sementes de Tomate	3	R\$ 3,00	R\$ 9,00
Calcário	1	R\$ 30,00	R\$ 30,00
Adubo 4 -14-8	1	R\$ 30,00	R\$ 30,00
Substrato	5	R\$ 50,00	R\$ 250,00
Vasos plásticos de 3 L	100	R\$ 3,00	R\$ 300,00
Conjunto EPI completo	1	R\$ 250,00	R\$ 250,00
Pulverizador costal manual	2	R\$ 50,00	R\$ 100,00
Resma de Papel A4	1	R\$ 12,90	R\$ 12,90
Cartucho de tinta para impressora	2	R\$ 40,00	R\$ 80,00
Inscrição em Eventos	1	R\$ 1,00	R\$ 500,00
Total			R\$ 29.298,96

* Equipamentos disponíveis na UFSC

10. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. **Manual de culturas hortícolas**. Lisboa: Presença, 2006. 325p.

BETTIOL, W. **Controle alternativo**. Embrapa. [2013?] Disponível em:

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_23_299200692526.html>. Acesso em: 02 out. 2013.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Métodos alternativos usados com sucesso no Brasil para o controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, 2004. p.143- 157.

BIANCHINI, L.; BEDENDO; I. P. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas. **Scientia Agricola**. vol. 55 n. 1, Piracicaba, janeiro-abril. 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90161998000100024>>. Acesso em: 03 out. 2013.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L.V. Introduction to Plant Disease Epidemiology. J. **Wiley & Sons**, New York, NY, USA, p. 532, 1990

CEPA. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina 2011/2012**. Disponível em:

<http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/Sintese_2012/sintese%202012.pdf>. Acesso em: 10 out. 2013.

COQUEIRO, D. S. O. **Atividade de quitosanas e da fração polissacarídica de babosa para o controle da mancha bacteriana (*Xanthomonas gardneri*) e pinta preta (*Alternaria solani*) em plantas de tomate**. 2010. 118p. Tese (Mestrado em Biotecnologia). Programa de pós-graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010. Disponível em: <<http://www.tede.ufsc.br/teses/PBTC0146-D.pdf>>. Acesso em: 07 out. 2013.

DAL SOGLIO, F. K. Manejo de doenças na perspectiva da transição agroecológica. In: STADNIK, M. J; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, 2004. p. 1-16.

FAGAN, E. B. **A cultura da Soja: modelo de crescimento e aplicação da estrobirulina piraclostroquina**. 2007. 84p. Tese (Doutorado em Agronomia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia). Universidade de São Paulo, Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2007. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-10032008-155007/pt-br.php>>. Acesso em: 23 out. 2013.

ITAKO, A. T. **Avaliação de produtos químicos no controle e na indução de mecanismos bioquímicos de resistência à mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) do tomateiro**. 2011. 104p. Tese (Doutorado em Agronomia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2011. Disponível em: <<http://www.pg.fca.unesp.br/Teses/PDFs/Arq0926.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2013.

- ITAKO, A. T et al. Efeito de produtos químicos sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro. **Idesia**.vol. 30, n. 2, Chile, maio-agosto, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-34292012000200011&script=sci_arttext>. Acesso em: 09 out. 2013.
- JADOSKI, C. J. **Efeitos fisiológicos da piraclostrobina em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) condicionado sob diferentes tensões de água no solo**. 2012. 81p. Tese (Mestrado em Agronomia). Programa de pós-graduação em Agronomia (Agricultura). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2012. Disponível em: <<http://www.pg.fca.unesp.br/Teses/PDFs/Arq0738.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2013.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). In: KIMATI, H; et. al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Ceres, 2005. p. 607-626.
- LOPES, C. A.; SANTOS, J. R. M. dos. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa, 1994. 61p.
- LOPES, E. C. P. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no crescimento, produtividade e pós-colheita de batata (*Solanum tuberosum* L.)**. 2011. 84p. Tese (Mestrado em Produção Vegetal). Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2011. Disponível em: <http://unicentroagronomia.com/destino_arquivo/_dissertacao_edina_cristiane_pereira_lopes.pdf>. Acesso em: 18 out. 2013.
- LUIZ, C. **Efeito de polissacarídeos no controle da mancha bacteriana do tomateiro (*xanthomonas gardneri*) e da podridão negra da couve-flor (*xanthomonas campestris* pv. *campestris*)**. 2013. 145p. Tese (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais). Programa de pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013. Disponível em: <<http://tede.ufsc.br/teses/PRGV0157-D.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2013.
- LUIZ, K. M. B. **Avaliação das características físico-químicas e sensoriais de tomates (*Lycopersicum esculentum mill*) armazenados em refrigeradores domésticos**. 2005. 107p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005. Disponível em: <<http://www.tede.ufsc.br/teses/PEAL0064.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2013.
- MALAVOLTA JR, V. A. **Doenças bacterianas em tomateiro: etiologia e controle**. Instituto Agrônomo. 2004. Disponível em: <<http://www.feagri.unicamp.br/tomates/pdfs/doebacter.pdf>>. Acesso em: 11 out. 2013.
- MELLO, S. C. M.; LOPES, C. A.; TAKATSU, A. Avaliação de resistência em genótipos de tomateiro a mancha-bacteriana, em campo e em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 496-501, 1997.
- MUELLER, S et al. **Indicações técnicas para o tomateiro tutorado na Região do Alto Vale do Rio do Peixe**. Florianópolis: Ed. Epagri, 2008. 78p. (Epagri. Sistema de produção, nº 45).

NASCIMENTO A. R et al. Controle químico da mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial em campo. **Horticultura Brasileira**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 15-24, jan./mar. 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v31n1/v31n1a03.pdf>>. Acesso em: 03 out. 2013.

PEREIRA, I. N. **Própolis: matéria-prima de potencial aplicação farmacêutica**. 2011. 55p. (Trabalho de conclusão de estágio). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2011. Disponível em:< <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/70110>>. Acesso em: 05 out. 2013.

QUEZADO-DUVAL, A. M.; ARAÚJO. E. R de; FERREIRA. M. A da. S. V. **Deteção e identificação molecular de *Xanthomonas* spp. causadoras da mancha bacteriana do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2012. 5p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 84). Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2012/cot_84.pdf>. Acesso em: 06 out. 2013.

QUEZADO-DUVAL, A. M.; LOPES, C. A.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Avaliação de produtos alternativos para o controle da mancha-bacteriana em tomateiro para o processamento industrial**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. 5p. (Embrapa Hortaliças. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 14). Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2005/bpd_14.pdf> Acesso em: 03 out. 2013.

SILVA, A. F da. **Própolis: Caracterização físico-química, atividade antimicrobiana e antioxidante**. 2009. 145p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009. Disponível em: <http://www.tede.ufv.br/tesesimplificado/tde_arquivos/38/TDE-2010-05-18T153127Z-2171/Publico/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 15 out. 2013.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, 2004. 293p.

TÖFOLI, J. G. **Ação de fungicidas e acibenzolar-s-methyl no Controle da pinta preta do tomateiro**. 2002. 137p. Tese (Mestrado em Agronomia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2002. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bla/33004064034P1/2002/tofoli_jg_me_botfca.pdf>. Acesso em 09 out. 2013.