

# REAÇÃO *IN VITRO* DE PLÂNTULAS DE BATATA A *ALTERNARIA SOLANI*

MIRTES F. LIMA\* ; JOSÉ A. BUSO & ANTÔNIO C. TORRES

Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNP/ EMBRAPA), C.Postal 218, 70359-970 Brasília-DF

(Aceito para publicação em 05/08/95)

LIMA, M. F.; BUSO, J.A. & TORRES, A.C. Reação *in vitro* de plântulas de batata a *Alternaria solani*. Fitopatol. bras. 21: 13-18. 1996.

## RESUMO

Plântulas das cultivares Bintje, Achat e Aracy, respectivamente suscetível, medianamente resistente e resistente a *Alternaria solani*, foram obtidas a partir de cultura de tecidos em meio MS, acrescido de 3% de sacarose, vitaminas, 0.05 mg/l de ácido naftaleno acético, 0.05 mg/l de cinetina e 0.2 mg/l de ácido giberélico e mantidos por cerca de 40 dias a 23±2°C com 16 h de fotoperíodo. Após 16 e 23 dias da inoculação de hastes no meio de cultura, as plântulas foram inoculadas por aspersão de suspensão de esporos de *A. solani* e incubadas a 24±1°C com 12 h de fotoperíodo. Em três ensaios conduzidos separadamente, estudou-se o efeito de épocas de avaliação para jatos de inoculação de 5 segundos (avaliação: 7, 12 e 18 dias), e 3 segundos de duração (avaliação: 7 e 12 dias após a inoculação com *A. solani*) e duas concentrações de inóculo (2.5x10<sup>2</sup>; 2.5x10<sup>3</sup> conídios/ml), em duas escalas de notas. A avaliação foi feita segundo o número de folíolos necrosados (escala 1) e a porcentagem da

área do folíolo necrosado (escala 2). Os padrões de resistência ('Aracy') e suscetibilidade ('Bintje') mantiveram-se em suas respectivas classes de resistência, porém 'Achat' (resistência intermediária) mostrou comportamento variável. Sete e 12 dias após a inoculação foram as melhores épocas de avaliação, para jatos de cinco e três segundos de duração, respectivamente, devido à maior facilidade de visualização dos sintomas de necrose nos folíolos individuais. A diferenciação das cultivares foi melhor para 2.5x10<sup>2</sup> con./ml, onde observou-se também um decréscimo do número de plantas tombadas. A escala 1, foi mais eficiente na avaliação dos sintomas, sendo 23 dias o melhor estágio de crescimento da planta para a inoculação com *A. solani*. O melhor desempenho foi para o jato de inoculação de 2 segundos de duração.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, pinta preta, *Alternaria solani*

## ABSTRACT

### Reaction *in vitro* of potato plantlets to *Alternaria solani*

Potato plantlets of cultivars Bintje, Achat and Aracy respectively susceptible, moderately resistant and resistant to *A. solani*, were obtained from tissue culture on MS medium with sucrose 3%, vitamins, naphthalene acetic acid 0.05 mg/l, kinetin 0.05 mg/l, gibberelic acid 0.2 mg/l, grown at 23±2°C for about forty days, with a 16h photoperiod. Sixteen- and twenty-three-day-old plantlets were inoculated by spraying a

spore suspension of *A. solani* and incubated at 24±1°C and 12h photoperiod. The effect of dates of evaluation for five (evaluation: 7, 12 and 18 days) and three seconds (7 and 12 days after inoculation with *A. solani*) time application, two spore concentrations (2.5x10<sup>2</sup>; 2.5x10<sup>3</sup> conidia/ml) and two note scales were studied in three separated bioassays. Scale 1 was based on the number of diseased leaflets and scale 2 on percentage of necrotic area of the leaflets. The resistant ('Aracy') and susceptible ('Bintje') patterns were kept; however, 'Achat' (moderately resistant) displayed a sharply different behavior. Seven and twelve days after inoculation

\* Endereço atual: EMBRAPA-CPATSA C. Postal 23 56300-000 Petrolina-PE.



were the best dates for evaluation, for five and three seconds time application, respectively, since it was easier to observe the symptoms on individual leaflets. Differences among cultivars were observed at the two concentrations; although,

there were less dead plantlets at concentration one. The scale one was more efficient than scale two and twenty-three-day-old plants were best for inoculation with *A. solani*. Two seconds was the most effective time of application.

## INTRODUÇÃO

A pinta preta, causada por *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones & Grout, é uma das principais doenças da batata, principalmente em climas quentes e onde a cultura é produzida sob irrigação (Lynch *et al.*, 1991). A doença é de ocorrência mundial, podendo causar danos irreversíveis durante o período vegetativo das plantas se prevalecerem condições ambientais de temperatura e umidade elevadas (O'Brien & Rich, 1976; Tokeshi & Bergamin, 1980). O patógeno pode causar lesões em folhas, hastes e tubérculos, embora nas condições brasileiras, *A. solani* infecte basicamente folhas e, raramente tubérculos (Brune *et al.*, 1990). Apesar da resistência genética à doença já ter sido relatada (Douglas & Pavék, 1972; Reifschneider *et al.*, 1984; Nunes *et al.*, 1984), o controle da mesma é feito principalmente através de produtos químicos (Bussey & Stevenson, 1991). O desenvolvimento de cultivares resistentes é, ambientalmente, a mais aceitável medida de controle; porém, a resistência dos genótipos varia de acordo com o local (Douglas & Pavék, 1972).

Não há método eficiente e acurado para se detectar a resistência em tecidos juvenis. A pinta preta é uma doença que ataca primariamente tecidos fisiologicamente maduros (Bussey & Stevenson, 1991) ou em senescência. Desta forma, plantas em estágio juvenil de desenvolvimento tendem a apresentar uma imunidade aparente (Johanson & Thurston, 1990) à doença dificultando a seleção nesta fase. Entretanto, Martin *et al.* (1987) avaliaram a resistência de plântulas de batata a *A. solani* em casa-de-vegetação e de plantas adultas em campo e, concluíram ser significativa a correlação entre os dois ambientes.

Este trabalho teve por objetivo o estudo da reação *in vitro* de plântulas de batata a *Alternaria solani*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1 - Condições comuns a todos os experimentos

**Obtenção das plântulas.** Tubérculos brotados das cvs. Aracy, Achat e Bintje, respectivamente resistente, medianamente resistente e suscetível a *A. solani*, foram plantados em vasos, contendo solo autoclavado, em casa-de-vegetação. Após 30 dias do plantio, as gemas apicais, destas plantas, foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (0.2-0.3% de cloro ativo), acrescido de duas gotas de Tween-80 por 15 minutos. Os meristemas foram então, excisados dos ápices e inoculados em frascos contendo meio com sais minerais de Murashige & Skoog (1962), acrescido de 3% de sacarose, vitaminas, 0.05mg/l de ácido naftaleno acético, 0.05mg/l de cinetina e 0.2 mg/l de ácido giberélico (Souza & Souza, 1985). Os frascos foram mantidos em câ-

mara de crescimento, com intensidade luminosa de 1000 lux, fotoperíodo de 16 h e temperatura de  $23\pm 2^\circ\text{C}$  sob agitação, por 40 dias.

As plântulas provenientes da cultura de meristemas foram indexadas para PVX, PVY e PLRV, através da técnica de ELISA. Propágulos livres destes vírus foram multiplicados em larga escala, utilizando-se segmentos caulinares com 3 a 4 gemas, em meio e condições de cultura descritos por Souza & Souza (1985). Lotes de plântulas uniformes, 15 dias após a inoculação dos explantes no meio, foram utilizados nos experimentos com *A. solani*.

**Isolado.** Seis isolados de *A. solani* foram obtidos de lesões necróticas típicas de pinta preta em folhas de batata. Destes, foi selecionado o isolado CNPH-1, baseado em testes de virulência em plântulas de batata em casa-de-vegetação, habilidade de esporulação segundo o método de Shahin & Shepard (1979) e rápido crescimento em BDA. A renovação de CNPH-1 foi feita pela repicagem do isolado em meio de cultura e inoculações periódicas de suspensão de esporos em folhas destacadas de plantas de batata, com posterior re-isolamento do fungo, assegurando assim, a manutenção de sua virulência. A esporulação de CNPH-1 foi feita cultivando-se o fungo em meio de suco de tomate temperado 'Superbom' (Rêgo & Reifschneider, 1982) a  $24\pm 1^\circ\text{C}$  no escuro. Após 8-10 dias, o micélio aéreo foi removido pela raspagem da superfície da colônia com bisturi estéril. O agar juntamente com a cultura remanescente foram cortados em pequenos quadrados ( $\pm 1\text{ cm}^2$ ) e transferidos para meio de carbonato de cálcio de acordo com a metodologia desenvolvida por Shahin & Shepard (1979). Após 72h de incubação a  $18^\circ\text{C}$  no escuro, os conídios foram coletados, colocando-se os quadrados de agar esporulados em becker contendo água estéril, agitando-se em "shaker" por 30 segundos e filtrando-se em camada dupla de gaze estéril. A partir da suspensão de conídios assim obtida, preparou-se as diluições em água estéril, com concentrações ajustadas em hemacitômetro ( $1\times 10^4$ ;  $2.5\times 10^2$ ;  $2.5\times 10^3$  esporos/ml), às quais acrescentou-se uma gota de Tween-20.

**Inoculação.** Para a inoculação das plântulas utilizou-se de um pequeno pulverizador manual, conectado a uma bomba de vácuo. O aparelho de pulverização foi esterilizado antes do uso e a inoculação foi feita em câmara de fluxo laminar, assegurando, assim, as condições assépticas do experimento. Cada frasco Erlenmeyer contendo três plântulas foi inoculado por aspersão de jatos de 30 Torr. de pressão. Para a inoculação da testemunha utilizou-se apenas água estéril. Os frascos contendo as plântulas inoculadas foram mantidos em incubadoras, à temperatura  $25\pm 1^\circ\text{C}$  e 12 h de fotoperíodo até a avaliação.

**Crerios de avaliação.** O número de folhas com manchas necróticas, a porcentagem da área foliar necrosada e o número de plantas mortas foram avaliados, segundo duas escalas de notas (Tabela 1).



**TABELA 1 - Escalas de avaliação para *Alternaria solani* em folíolos de plântulas de batata inoculadas *in vitro*.**

Escala	Porcentagem de folíolos necrosados <sup>1</sup>	Notas				
		1	2	3	4	5
1 (Incidência)	Plantas sem sintomas	até 25	26-50	51-75	76-100	
2 (Severidade)	Folíolos sem sintomas	até 25	26-50	50-75	76-100	

<sup>1</sup> Baseado na classe de notas desenvolvida por Ribeiro (1984).

**Delineamento experimental.** O delineamento foi inteiramente casualizado com dez repetições, sendo a parcela experimental constituída por dois frascos contendo três plântulas cada.

### 2 - Experimento 1: Efeito da época de avaliação para jato de inoculação de cinco segundos de duração

Um jato de cinco segundos de duração de uma suspensão de esporos de concentração  $1 \times 10^4$  conídios/ml foi aspergido sobre plântulas das cvs. Bintje e Aracy. As avaliações dos sintomas foram feitas segundo a escala 1 (Tabela 1) de notas aos 7, 12 e 18 dias após a inoculação (d.a.i.).

### 3 - Experimento 2: Efeito da época de avaliação para jato de inoculação de três segundos de duração

Em um segundo ensaio, plântulas das cvs. Aracy, Achat e Bintje foram inoculadas com um jato de três segundos de duração com suspensão de esporos de  $1 \times 10^4$  conídios/ml. A avaliação foi feita de acordo com a escala 1 (Tabela 1) de notas aos 7 e 12 d.a.i.

### 4 - Experimento 3: Avaliação de duas concentrações de inóculo e de duas idades de plântulas

Plântulas das cultivares Bintje, Achat e Aracy foram inoculadas para comparar suas reações quando submetidas a duas concentrações de esporos ( $2.5 \times 10^2$ ;  $2.5 \times 10^3$  conídios/ml) de *A. solani*. A inoculação foi feita em plântulas de 16 e 23 dias após a inoculação das hastas no meio de cultura, por aspersão de um jato de inóculo de dois segundos de duração por frasco, diretamente sobre as plântulas. As escalas 1 e 2 (Tabela 1) foram utilizadas na avaliação das plântulas inoculadas, aos 7 d.a.i.

## RESULTADOS & DISCUSSÃO

### 1 - Experimento 1: Efeito da época de avaliação para jato de inoculação de cinco segundos de duração

Houve diferença significativa entre 'Bintje' e 'Aracy' nas três épocas de avaliação, permanecendo diferenciadas quanto ao grau de resistência (Tabela 2). Apesar de diferen-

ciadas estatisticamente da cv. Bintje, as médias de incidência de doença para 'Aracy' ainda foram consideradas altas nas três épocas de avaliação, o que deve ter ocorrido muito provavelmente devido ao tempo de duração do jato de inoculação que pode ser considerado longo. Os primeiros sintomas foram observados 4 d.a.i. com pequenas manchas necróticas e crescimento micelial nas folhas mais velhas. 'Bintje' e 'Aracy' apresentaram a mesma diferença em comportamento nas três épocas de avaliação, ocorrendo um aumento proporcional na incidência (escala 1) da doença. Constatou-se que a doença foi mais severa de 7 a 12 dias após a inoculação do que de 12 a 18 dias. Isto significa que até 12 dias o progresso da doença foi mais rápido, sendo mais lento e tendendo à estabilização, à medida em que aumentou a porcentagem de tecido da plântula infectado com *A. solani*.

Aos quatro d.a.i. observou-se o início de sintomas de necrose na região do colo das plântulas, que evoluíram, causando estrangulamento e tombamento, principalmente para a cv. Bintje; 'Aracy' apresentou tombamento, porém em um menor número de plantas. Estes sintomas resultaram da infecção originada pelos conídios que entraram em contato com a superfície do meio de cultura, devido ao método de inoculação. Os esporos germinaram e o fungo desenvolvido colonizou o meio, atingindo o colo das plântulas e causando lesões. O número de plântulas com lesões no colo foi aumentando concomitantemente com as épocas de avaliação, embora apenas necrose de folha tenha sido considerado como critério. O tempo de duração do jato de inoculação, a concentração de inóculo considerada, assim como também o caráter saprofítico de *A. solani*, que cresce em qualquer meio de cultura, conjuntamente, foram as causas da necrose no colo das plântulas. Reduziu-se, portanto, o tempo de duração do jato de inoculação por frasco, de cinco para três segundos no ensaio posterior, com o objetivo de reduzir a incidência de esporos no meio de cultura e conseqüentemente o número de plântulas tombadas.

Houve grande semelhança entre os sintomas apresentados pelas plantas infectadas em campo e os apresentados pelas plântulas micropropagadas e inoculadas *in vitro*, onde ocorreram manchas necróticas com halos cloróticos, inicialmente nos folíolos mais velhos, levando conseqüentemente ao colapso, murcha e queda dos folíolos. Observou-se ainda que os padrões de progressão dos sintomas nas plântulas são os mesmos que ocorrem em casa-de-vegetação ou em campo, com manifestação de sintomas mais prontamente nas folhas mais maduras do que nas mais jovens.

A avaliação de plantas de batata inoculadas com *A. solani in vitro* pode ser feita em qualquer uma das três épocas consideradas. Porém, a avaliação aos 7 dias foi a mais eficiente, pois além da diferenciação entre as cultivares, ocorreu também um menor número de plantas tombadas, o que facilitou a observação dos sintomas nos folíolos individuais.

### 2 - Experimento 2: Efeito da época de avaliação para jato de inoculação de três segundos de duração

No segundo ensaio, observou-se que a redução do tempo de duração do jato de inoculação, de cinco para três segundos, reduziu o número de plantas tombadas, em relação ao ensaio anterior, devido à menor quantidade de esporos depositados sobre o meio de cultura. As médias para 'Bintje'



e 'Aracy' foram menores para jatos de três (Tabela 3) do que para jatos de cinco segundos de duração (Tabela 2). Vale ressaltar que a diferença entre as médias destas duas cultivares foi maior neste ensaio, aos 12 d.a.i. (Tabela 3), do que no anterior (Tabela 2), o que não ocorreu aos sete dias, embora utilizada a mesma concentração de inóculo. Isto permitiu uma melhor distinção entre 'Aracy' (resistente) e 'Bintje' (suscetível). Devido à ocorrência de tombamento menos pronunciado no ensaio, decidiu-se reduzir ainda mais o tempo de duração do jato de inoculação no próximo experimento para dois segundos.

**TABELA 2 - Reação de plântulas de batata *in vitro* a *Alternaria solani*, inoculadas com um jato de suspensão de esporos ( $1 \times 10^4$  esporos/ml), de 5 segundos de duração em três épocas de avaliação.**

Cultivar	Incidência da doença <sup>1</sup>		
	7 d.a.i. <sup>2</sup>	12 d.a.i.	18 d.a.i.
Bintje	2.50a <sup>3</sup>	3.82a	4.30a
Aracy	1.65 b	2.83 b	3.30 b
C.V. (%)	13.37	16.67	15.91

<sup>1</sup> Incidência da doença: 1=planta sem sintomas; 2=até 25%; 3=26-50%; 4=51-75%; 5=76-100% dos folíolos necrosados.

<sup>2</sup> d.a.i.: dias após a inoculação.

<sup>3</sup> Tukey, 5%. Os dados originais foram transformados para raiz de  $x+0.5$ .

**TABELA 3 - Avaliação da incidência de *Alternaria solani* em folíolos de plântulas de batata inoculadas *in vitro*, com um jato de suspensão de esporos ( $1 \times 10^4$  esporos/ml), de 3 segundos de duração.**

Cultivar	Incidência da doença <sup>1</sup>	
	7 d.a.i. <sup>2</sup>	12 d.a.i.
Bintje	0.74a <sup>3</sup>	3.26a
Achat	0.29 b	1.38 b
Aracy	0.20 b	0.84 b
C.V. (%)	15.45	13.29

<sup>1</sup> Incidência da doença: 1=planta sem sintomas; 2=até 25%; 3=26-50%; 4=51-75%; 5=76-100% dos folíolos necrosados.

<sup>2</sup> d.a.i.: dias após a inoculação.

<sup>3</sup> Tukey, 5%. Os dados originais foram transformados para raiz de  $x+0.5$ .

### 3 - Experimento 3: Avaliação de duas concentrações de inóculo e de duas idades de plântulas

Houve diferença significativa entre cultivares e concentrações de inóculo, quando avaliou-se a incidência (escala 1) e a severidade (escala 2) da doença. A interação cultivar x concentração foi significativa. 'Aracy' e 'Bintje' permaneceram diferenciadas quanto à resistência. Entretanto, 'Achat' (resistência intermediária) comportou-se de maneira variável semelhante à 'Bintje' (suscetível), quando plântulas foram

inoculadas com  $2.5 \times 10^2$  esporos/ml, e à 'Aracy' (resistente) quando utilizou-se concentração de inóculo maior (Figuras 1A; 1D) (Lima & Buso, 1993).

As duas concentrações de inóculo foram estatisticamente diferentes, separando as cultivares tanto à  $2.5 \times 10^2$  (Figuras 1A; 1B; 1D) como a  $2.5 \times 10^3$  esporos/ml (Figuras 1A; 1C; 1D). Observou-se notas mais altas para a concentração  $2.5 \times 10^3$  conídios/ml devido às maiores áreas lesionadas, entretanto um maior número de plântulas tombadas também foi observado. Para  $2.5 \times 10^2$  esporos/ml a diferenciação das cultivares foi melhor, mesmo considerando-se o comportamento variável de 'Achat', sendo a concentração mais adequada à inoculação, uma vez que mantiveram-se os padrões de resistência e de suscetibilidade a *A. solani*.

Plântulas com 23 dias quando inoculadas com *A. solani* mostraram-se mais suscetíveis (Figuras 1C; 1D) do que plântulas com 16 dias (Figuras 1A; 1B), em concordância com o que ocorre no campo. Portanto, apesar de não ter havido grande variação entre os resultados obtidos quando a avaliação das cultivares foi feita com as duas escalas, de acordo com os padrões considerados para cada uma delas, a escala 1 mostrou ser a mais adequada, por avaliar o número de folíolos necrosados, separando melhor a cultivar resistente ('Aracy') da suscetível ('Bintje').

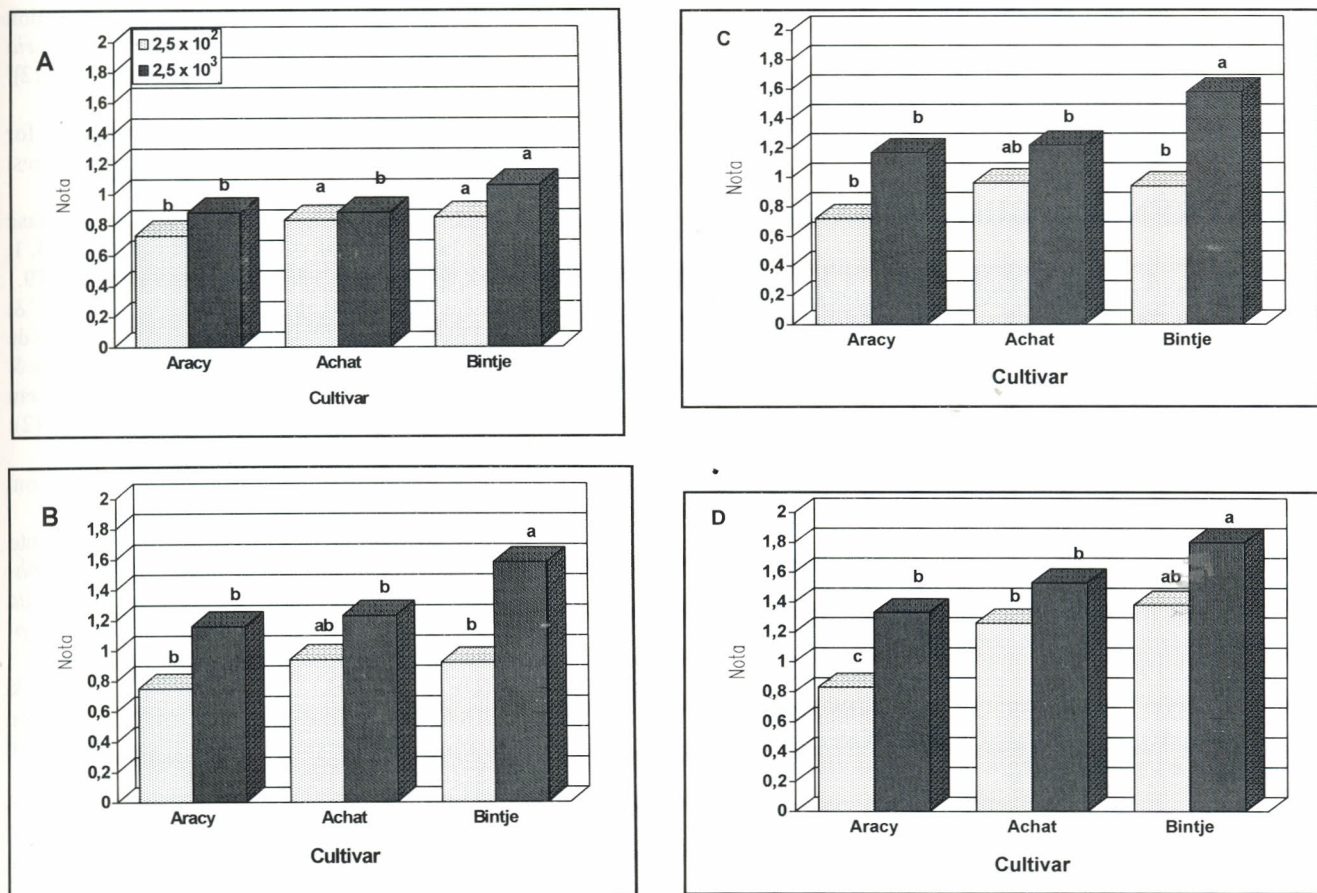
A aspersão de esporos de *A. solani* diretamente sobre folhas de plântulas *in vitro* mostrou ser uma técnica de inoculação eficiente, o que foi confirmado pelos resultados obtidos para as cvs. Aracy e Bintje, apesar do comportamento variável da cv. Achat.

Saprófitas parasitas como *Alternaria* spp. são geralmente favorecidos por debilidade e senescência dos tecidos do hospedeiro; *A. solani* é um exemplo destes patógenos, o que lhe permite crescer em quaisquer tipos de nutrientes, incluindo o meio de cultura de tecidos (Broggio & Ranucci, 1990).

Há muitos fatores a serem considerados no estabelecimento de um sistema de cultura de tecidos para o estudo da resistência de plantas à doença. O sistema deve estar bem definido, principalmente para os estudos de resistência nos quais não há respostas claras por parte do hospedeiro e naqueles em que o estado fisiológico do hospedeiro pode mascarar a sua base genética (Miller & Maxwell, 1983). O uso de plantas micropropagadas oferecem muitas vantagens como a exclusão de outros microorganismos; controle de parâmetros ambientais (temperatura, luz) e controle dos níveis de inóculo do patógeno (Miller & Maxwell, 1983). Neste sistema de infecção, as condições ambientais são favoráveis ao patógeno: ótima temperatura, altos níveis de umidade relativa e alta concentração de inóculo. Neste trabalho observou-se que o estabelecimento destas condições é tecnicamente possível. Determinada a concentração de inóculo, o estágio de inoculação, o método e a época de avaliação, além da correlação positiva e significativa entre os resultados obtidos *in vitro* e as respostas das cultivares a *A. solani* em campo (Brune et al., 1990), pode-se concluir que este sistema pode ser utilizado para o estudo da relação patógeno x hospedeiro (*Alternaria solani*/batata).

Os resultados obtidos demonstram que a diferenciação de cultivares de batata à *A. solani* é possível através da inoculação do fungo em plântulas, utilizando o sistema *in*





**FIG. 1** - Reação de três cultivares de batata inoculadas com duas concentrações de esporos de *Alternaria solani*; A e B) Plântulas com 16 dias, avaliadas de acordo com as escalas 2 e 1, respectivamente (Tabela 1); C e D) Plântulas aos 23 dias, avaliadas segundo escalas 2 e 1, respectivamente. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si para barras de mesmo padrão (Tukey, 5%). Os dados originais foram transformados para raiz de  $x+0.5$ .

*in vitro*. Entretanto, ainda são necessários ensaios adicionais no sentido de se obter um sistema batata *in vitro*/A. *solani* completamente adaptado. O tombamento das plântulas foi um dos aspectos desfavoráveis do sistema, devido ao caráter saprofítico de A. *solani*, entretanto, isto pode ser solucionado através da incorporação de compostos fungistáticos ao meio de cultura. Por outro lado, a inoculação de A. *solani* pode ser feita alternativamente em plântulas de batata, em casa-de-vegetação, onde tem-se condições ambientais próximas às reais, favorecendo não apenas ao patógeno mas também ao hospedeiro, deve-se considerar também à ausência de contaminação, já que o suporte ao crescimento das plantas seria o solo e portanto não propício ao crescimento do fungo, quando comparado ao meio de cultura.

A concentração de inóculo de  $2.5 \times 10^2$  esporos/ml e a avaliação utilizando a escala 1 (incidência), assim como a inoculação de plântulas de 23 dias com jatos de 2 segundos de duração, foram as condições mais adequadas à inoculação de plântulas *in vitro*. A avaliação das plântulas inoculadas *in vitro* deve ser feita considerando-se as folhas mais maduras, uma vez que estas manifestam sintomas característicos da doença após a inoculação com A. *solani*, mais prontamente do que as folhas mais jovens, semelhante ao que ocorre em

plantas infectadas em campo. Entretanto, observou-se que houve alguma dificuldade na identificação de genótipos com níveis intermediários de resistência. Deve-se considerar ainda o aspecto econômico, uma vez que esta é uma técnica cara quando se dispõe de um grande número de genótipos a ser avaliados. Por outro lado, a inoculação de plântulas de batata *in vitro* com A. *solani*, poderia ser utilizada em casos em que se dispusesse de materiais apenas sob condições *in vitro*, e cuja multiplicação e avaliação fosse necessária em curto período de tempo. Porém, em programas de melhoramento de batata, onde um grande número de genótipos é avaliado simultaneamente por vários ciclos, esta técnica devido a sua rapidez e menor custo, poderia ser utilizada como método adicional, na eliminação dos materiais mais suscetíveis, nos estágios iniciais do processo de seleção, reduzindo assim, o número de genótipos a serem mantidos nos ciclos de seleções subsequentes, proporcionando uma economia de tempo, espaço e mão-de-obra gastos nas avaliações tradicionais de batata a A. *solani* feitas em campo. Estas avaliações no CNPHortaliças/ EMBRAPA são feitas em clones no campo, em quatro avaliações a intervalos de dez dias, sendo a primeira 40 dias após o plantio.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Paulo Eduardo de Melo pela avaliação do manuscrito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROGGIO M. & RANUCCI, A. Screening potato genotypes for resistance to *Alternaria solani* through *in vitro* infection of regenerant calli and micropagated plantlets. *Rivista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale*, 534-537. 1990.
- BRUNE, S.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. & BUSO, J.A. Resistência de genótipos de batata (*Solanum tuberosum*) à pinta preta (*Alternaria solani*). *Fitopatol. bras.* 15(4): 297-298. 1990.
- BUSSEY, M.J. & STEVENSON, W.R. A leaf disk assay for detecting resistance to early blight caused by *Alternaria solani* in juvenile potato plants. *Plant Dis.* 75(4): 385-390. 1991.
- DOUGLAS, D.R. & PAVEK, J.J. Screening potatoes for field resistance to early blight. *American Potato Journal* 49(1): 1-7. 1972.
- JOHANSON, A. & THURSTON, H.D.. The effect of cultivar maturity on the resistance of potatoes to early blight caused by *Alternaria solani*. *American Potato Journal* 67: 615-623. 1990.
- LIMA, M.F. & BUSO, J.A. Inoculação de plântulas de batata com *Alternaria solani* *in vitro*. *Horticultura Brasileira* 11(1): 79. 1993. (Resumo).
- LYNCH, D.R.; WASTIE, H.E.; STEWART, G.R.; MACKAY, G.R.; LYON, G.D. & NACHMIAS, A. Screening for resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potato (*Solanum tuberosum* L.) using toxic metabolites produced by the fungus. *Potato Research* 34: 297-305. 1991.
- MARTIN, C.; MENDOZA, H. & TORRES, H. Evaluation of a seedling screening test for early blight (*Alternaria solani*) resistance in potatoes. *Phytopathology* 77(12): 1747. 1987.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 493-497. 1962.
- MILLER, S.A. & MAXWELL, D.P. Evaluation of disease resistance. In: *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol. 1. New York, Macmillan, 1983. Chapter 31, p.835-879.
- NUNES, M.A.L.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G.M. & MIZUBUTI, A. Efeito da temperatura e densidade de inóculo de *Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones & Grout sobre a taxa de progresso da pinta preta em diferentes cultivares de batateira. *Fitopatol. bras.* 9(2): 327. 1984. (Resumo).
- O'BRIEN, M.J. & RICH, A.E. *Potato diseases*. Washington, U.S. Government Printing Office, 1976. 79p.
- RÊGO, A.M.R. & REIFSCHNEIDER, F.J.B. Levantamento de grupos de compatibilidade de isolados de *Phytophthora capsici* Leonian, obtidos de abóbora (*Cucurbita maxima* Duch. x *C. moschata* Duch.), pimenta (*Cap-sicum annum* L.) *Fitopatol. bras.* 7(1): 55-61. 1982.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; FURUMOTO, O. & FILGUEIRA, F.A.R. Illustrated key for the evaluation of early blight of potatoes. *FAO Plant Protection Bulletin* 32(3): 91-94. 1984.
- RIBEIRO, A.S. Métodos de avaliação de doenças em beterraba açucareira. In: *Beterraba Açucareira*. Anais da II Reunião Técnica Anual. Pelotas-RS, 02-04 Ago. 1984.
- SHAHIN, P. & SHEPARD, 1979, N. An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. *Phytopathology* 69(6): 618-620. 1979.
- SOUZA, E.L.S. & SOUZA, J.N. Produção de plantas livres de vírus. In: *Anais do Simpósio Nacional de Cultura de Tecidos Vegetais*, EMBRAPA/DDT, Brasília, p.21, 1985.
- TOKESHI, H. & BERGAMIN, A. Doenças da batata (*Solanum tuberosum* L.). In: *Galli, F. Manual de Fitopatologia*, Vol.II. S. Paulo, Ed. Agron. CERES, 1980. p.102-120.