

Detecção de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em sementes de tomateiro pelo método de papel de filtro com adição de restritores

Detection of Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici in tomato seeds by filter paper method with addition of water restrictors

Regina Ceres Torres Rosa^{1*} , Luciana Melo Sartori Gurgel¹ , Mina Karasawa¹ , Domingos Eduardo Tavares Guimaraes Andrade¹ , Tereza Cristina Assis¹ 

¹Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Av. General San Martin 1371, CEP 50761-000, Recife, PE, Brasil

*autor correspondente
✉ reginactrosa@gmail.com

RESUMO: As sementes constituem insumos biológicos importantes para a propagação vegetal, cujo uso com qualidade sanitária assume grande relevância. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso de diferentes restritores hídricos (manitol, cloreto de potássio, cloreto de sódio e sacarose) e potenciais hídricos (0, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa) na germinação de sementes de tomate e na incidência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) em duas concentrações. A detecção do FOL nas sementes foi favorecida pelo uso dos diferentes restritores, destacando-se o manitol como mais eficiente nessa detecção, principalmente nos potenciais osmóticos de -0,8 e -1,0 MPa, com acurácia acima de 75%. O método papel de filtro com adição de restritores detectou o patógeno na menor concentração de inóculo (1×10^3 conídios/mL), independente do restritor e isolado utilizados.

PALAVRAS-CHAVE: Murcha de fusário, germinação, sanidade, *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT: Seeds are important biological inputs for plant propagation, and their use with sanitary quality is of great importance. This work aimed to evaluate the use of different water restrictors (mannitol, potassium chloride, sodium chloride and sucrose) and water potentials (0, -0.4, -0.6, -0.8 and -1.0 MPa) on the germination of tomato seeds and also the incidence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) in two concentrations. The detection of FOL in the seeds was favored by the use of different water restrictors, since mannitol stood out as the most efficient in this detection, mainly in the osmotic potentials of -0.8 and -1.0 MPa, aiming to achieve over 75% accuracy. The filter paper method with addition of water restrictors detected the pathogen in the lowest inoculum concentration (1×10^3 conidia/mL) regardless of the restrictor and isolate used.

KEYWORDS: Fusarium wilt, germination, sanity, *Solanum lycopersicum*.

Introdução

O tomate (*Solanum lycopersicum*), amplamente cultivado em regiões brasileiras, ocupa lugar de destaque na mesa do consumidor por ser rico em nutrientes e componentes bioativos que o tornam um alimento funcional de grande valor na prevenção de doenças. O Brasil é o nono maior produtor mundial de tomate, com 55,67 mil hectares cultivados e uma

produção que atinge 3,95 milhões de toneladas, o que significa uma média de 71 t/ha. Embora cultivado nacionalmente em maior ou menor escala, os principais produtores são os Estados de Goiás, São Paulo e Minas Gerais, com aproximadamente 32 mil hectares de área plantada e uma produção anual de 2,6 milhões de toneladas (INSTITUTO..., 2021).

A cultura do tomateiro é afetada por diversos problemas fitossanitários que acarretam redução de produtividade, da qualidade do produto e limitam o cultivo em algumas áreas. Para muitas dessas doenças não existem medidas eficazes de manejo. Uma doença que se destaca nesse contexto é a murcha de fusário, que tem como agente etiológico três raças do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), de ocorrência generalizada em quase todas as regiões produtoras de tomate, incluindo Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste brasileiro. É uma doença radicular, favorecida por temperatura alta e solos arenosos e/ou ácidos. O patógeno dissemina-se a curtas distâncias por meio de mudas infectadas, de implementos agrícolas e da água de irrigação. No entanto, o modo mais eficiente de disseminação a longas distâncias é a transmissão por sementes contaminadas (LOPES et al., 2005; REIS; LOPES, 2012).

Desta forma, o uso de sementes de alta qualidade genética, fisiológica e sanitária, com práticas culturais adequadas, são pré-requisitos fundamentais na instalação de uma cultura no campo. A análise de sementes visando à avaliação da qualidade sanitária de uma amostra e, conseqüentemente, do lote que representa, é uma medida que deve ser adotada pelos agricultores antes da instalação da lavoura.

A escolha do método utilizado na análise sanitária de sementes depende, dentre vários fatores, do tipo de patógeno, das condições disponíveis e dos objetivos do teste (MACHADO et al., 2002). Em relação aos fungos, é importante conhecer o crescimento destes quanto ao potencial hídrico do substrato. De maneira geral, o crescimento dos fungos é favorecido até um nível ótimo, reduzindo sob potenciais hídricos muito negativos, normalmente acima de -1,0 MPa (FARIAS et al., 2004).

A restrição pelo uso de solutos tem sido estudada para inibir ou retardar a germinação de sementes de diversas espécies, tais como feijão, soja, algodão, milho, trigo, etc. (JUNGES et al., 2014), permitindo assim a identificação de fungos em análise de sementes, por não afetar o desenvolvimento destes (CELANO et al., 2012). A técnica utiliza papel de filtro umedecido com restritores hídricos para o controle da germinação das sementes, sem afetar o desenvolvimento de fungos associados a estas. A inibição da germinação acontece devido ao efeito osmótico e/ou iônico que promove a penetração de íons nas células e torna difícil a absorção de água (BEZERRA et al., 2013). Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do uso de diferentes restritores hídricos e concentrações no método papel de filtro visando à detecção da murcha de fusário em diferentes níveis de concentração.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Patologia de Sementes – LAPAS do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA. Os isolados de FOL (FOL01, FOL02 e FOL03) utilizados

no experimento pertencem à coleção da Micoteca do IPA, e as sementes de tomate cv. Ponderosa provenientes do banco de sementes do IPA.

Obtenção dos potenciais hídricos

Como Restritores Hídricos – RH foram utilizados os produtos sacarose, manitol, cloreto de potássio (KCl) e cloreto de sódio (NaCl), em soluções com potenciais hídricos de 0, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa. As soluções de sacarose, manitol, KCl e NaCl foram preparadas utilizando-se a fórmula proposta por Van't Hoff citado por Salisbury e Ross, 1991:

$$\Psi_{os} = -i RTC \quad (1)$$

Sendo:

Ψ_{os} = Potencial osmótico (MPa)

i = Coeficiente isotônico,

R = Constante geral dos gases perfeitos (0,0083 Mpa x 1 x mol⁻¹ x K⁻¹)

T = Temperatura absoluta (°K)

C = Concentração (mol/L)

As quantidades de cada soluto calculadas foram colocadas em erlenmeyer contendo 1000 mL de água destilada, sendo estes em seguida esterilizados a 120°C por 20 minutos.

Preparo do inóculo e inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Discos de cinco (5) mm de diâmetro dos três isolados de FOL foram repicados para as placas de Petri, contendo meio Batata–Dextrose–Agar (BDA), e foram mantidas a 25 °C e fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, em incubadora tipo Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) por sete dias. Após esse período, adicionaram-se 10 mL de água destilada esterilizada (ADE) a cada placa, em seguida essas foram raspadas, com o auxílio de uma lâmina, e a cada suspensão foi coada em gaze dupla e a essas acrescentou-se uma gota de espalhante adesivo (Tween 80®). As suspensões de conídios, de cada isolado de FOL, foram ajustadas para duas concentrações (1x10³ e 1x10⁶ conídios/mL) em microscópio ótico, com o auxílio de uma câmara de Neubauer. Após a contagem, as suspensões foram utilizadas para inoculação nas sementes de tomate.

Método do papel de filtro com adição de restritores hídricos com diferentes potenciais hídricos e concentrações de FOL

As sementes foram previamente desinfestadas em hipoclorito de sódio a 1% por um minuto, lavadas por duas vezes sucessivas em ADE e secas sobre papel estéril em câmara de fluxo por aproximadamente uma hora. Logo depois, estas foram imersas nas duas concentrações previamente preparadas e mantidas nessa condição por 10 minutos, e utilizadas no método de inoculação proposto. Como controle, as sementes foram, da mesma forma, desinfestadas e inoculadas com água.

Em seguida, as sementes inoculadas de cada tratamento foram colocadas em caixas tipo Gerbox, contendo como substrato três folhas de papel mata-borrão esterilizado e umedecido, uniformemente, com cada uma das soluções ajustadas para

os potenciais e restritores hídricos propostos. O tratamento controle foi umedecido com água destilada. As caixas foram acondicionadas e incubadas em BOD, com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.

Após o período de incubação foram realizadas as seguintes avaliações: 1- Germinação – foram consideradas germinadas as sementes que apresentarem sinais visíveis da emissão da radícula. 2- Incidência de isolados de FOL – em cada semente, sendo a identificação realizada por meio de microscópio estereoscópico e microscópio óptico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial $3 \times 4 \times 5 \times 2$ (três isolados de FOL, quatro RH, cinco potenciais hídricos, duas concentrações de esporos), perfazendo um total de 120 tratamentos, com cinco repetições de 20 sementes/tratamento. A análise de variância foi efetuada com os dados transformados em $\sqrt{x+k}$ com $k=1$, utilizando-se o teste de Tukey a 5% para comparação de médias (CANTERI et al., 2001), e, então, realizadas as análises de regressão para os diferentes potenciais osmóticos.

Resultados e Discussão

Na avaliação das sementes de tomate, foi observada redução de mais de 50% na germinação a partir -0,4 MPa, todos os restritores utilizados, sendo mais acentuada com NaCl, na dosagem -0,6 MPa, independente do isolado de FOL e concentração. A inibição da germinação foi total quando os restritores hídricos sacarose e NaCl foram utilizados, a partir de -0,8 MPa, e KCl -1,0 MPa (Tabela 1). Silva Júnior et al. (2014) observaram redução significativa da porcentagem de germinação de sementes de tomate, no potencial hídrico a partir de -0,4 Mpa, com o uso do NaCl. Resultados similares foram encontrados por Paula et al. (2016), que verificaram que a utilização dos restritores hídricos NaCl, manitol e KCl inibiram a germinação de sementes de tomate no menor potencial hídrico (-0,3 MPa). De acordo com estes autores, o uso de restritores hídricos é uma alternativa viável a ser utilizada na pesquisa, uma vez que é uma técnica de fácil aplicação, com baixo custo, quando comparado ao congelamento.

O estudo demonstrou também que, independente do isolado e concentração de FOL empregados, à medida que o potencial osmótico decresce, a velocidade da germinação diminui. Esse comportamento foi representado por equações lineares (Figura 1). Senigalia et al. (2020) observaram atraso na germinação das sementes de *Myracrodruon urundeuva* à medida que se aumentou o potencial osmótico das soluções nas quais as sementes foram submetidas.

Considerando apenas os isolados de FOL e os restritores, os resultados mostraram menor germinação quando foram utilizados sacarose para o isolado FOL01, manitol para o FOL02, e sem diferença significativa entre os restritores do FOL03 (Tabela 2). Rey et al. (2005) evidenciaram que a sacarose favoreceu o desenvolvimento de *Colletotrichum lindemuthianum*, e que a restrição hídrica pode ser utilizada para impedir a germinação de sementes em testes de sanidade ao nível de -0,6 a -0,8 MPa sem afetar o desenvolvimento do fungo. Araújo et al. (2012) verificaram que o potencial osmótico -0,8 MPa foi crítico para

germinação das sementes de algodão, tanto quando se empregou o soluto manitol como restritor hídrico, quanto o NaCl. Estes

Tabela 1. Percentual de germinação de sementes de tomate cv. Ponderosa após a submissão a diferentes potenciais e restritores hídricos, independente do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* empregado.

Potencial Hídrico (MPa)	Germinação (%)			
	Restritor			
	Manitol	Sacarose	NaCl	KCl
0	85,4a A	85,4a A	89,2a A	84,2a A
-0,4	50,8b A	48,3b A	55,0b A	51,7b A
-0,6	17,1c BC	10,0c C	18,3c B	33,8c A
-0,8	10,4c A	0,0d B	0,0d B	1,3d B
-1	0,83d A	0,0d A	0,0d A	0,0d A

NaCl = Cloreto de sódio; KCl = Cloreto de potássio. d.m.s. para restritores dentro potenciais = 1,015; d.m.s. para dosagens dentro restritores = 1,078. Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P=0.05). Análise de dados transformados em $\sqrt{x+k}$ com $k=1$.

Tabela 2. Percentual médio de germinação de sementes de tomate cv. Ponderosa após a submissão a diferentes restritores hídricos e isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, independentemente das concentrações empregadas.

Restritor hídrico (MPa)	Germinação (%)		
	Isolado		
	FOL01	FOL02	FOL03
Manitol	37,0a A	23,0b B	38,8a A
Sacarose	25,5b A	30,5ab A	30,3a A
NaCl	35,3a A	27,5ab A	34,8a A
KCl	33,5ab A	31,8a A	37,3a A

NaCl = Cloreto de sódio; KCl = Cloreto de potássio. d.m.s. para restritores dentro dos isolados = 0,716; d.m.s. para raças dentro dos restritores hídricos = 0,786. Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P=0,05). A análise de dados transformada em $\sqrt{x+k}$ com $k=1$.

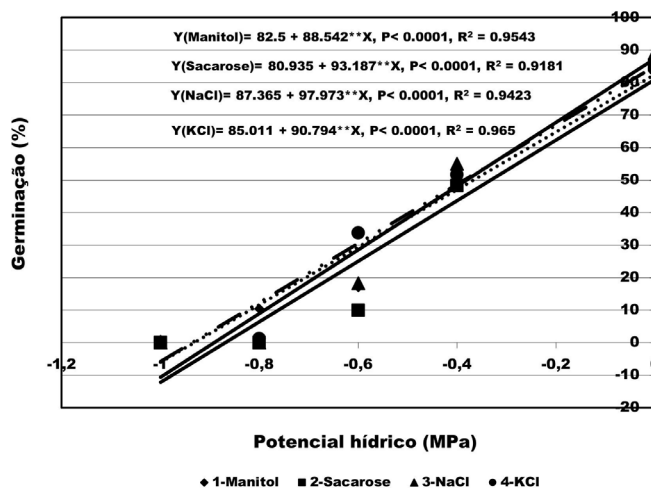


Figura 1. Percentual germinativo de sementes de tomate cv. Ponderosa, submetidas a diferentes potenciais e restritores hídricos, independente do isolado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e concentração deste utilizada. NaCl = Cloreto de sódio; KCl = Cloreto de potássio.

resultados estão de acordo com Duarte et al. (2006) e Torres (2007), que observaram redução da germinação de sementes de trigo e melancia, respectivamente, com a restrição hídrica através do substrato NaCl.

Na interação entre os isolados e concentração de esporos de FOL, independente do potencial e restritor hídrico usado, foi observada uma variação na germinação, entre os tratamentos, havendo diferenças entre e dentro os isolados em cada concentração estudada, contudo o percentual não passou de 37%.

A incidência de FOL teve significativo aumento, em relação à testemunha, com a redução do potencial osmótico, variando de acordo com o restritor e o potencial hídrico. Maior incidência de FOL nas sementes, acima de 80%, foi verificada ao usar como restritor o manitol, nos potenciais -0,8 e -1,0 MPa, que foi superior aos demais tratamentos (Figura 2). O manitol não afetou o crescimento de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em potenciais osmóticos variando entre -0,4 e -1,0 MPa (Machado et al., 2004). Estes resultados foram confirmados por Araújo et al. (2012), que constataram a eficiência do uso do manitol nos potenciais osmóticos de -0,8 e -0,6 MPa na redução do comprimento da radícula de sementes de algodão, não interferindo na detecção de *C. gossypii* var. *cephalosporioides*.

Pesquisa com o uso da restrição hídrica em testes de sanidade tem sido realizada para comprovar a não interferência da técnica no desenvolvimento dos fungos. Neste trabalho, a detecção do *Fusarium*, independente do isolado e concentração empregada, medida pelo percentual de incidência nas sementes, foi favorecida pelo uso dos diferentes restritores, sendo o manitol mais eficiente nessa detecção, principalmente nos potenciais osmóticos de -0,8 e -1,0 MPa (Figura 2) com acurácia acima de 75%. Farias et al. (2003) verificaram que a restrição hídrica induzida em sementes de milho e trigo por manitol não prejudicou a detecção de fungos como *Alternaria*, *Bipolaris*, *Fusarium*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* e *Penicillium*.

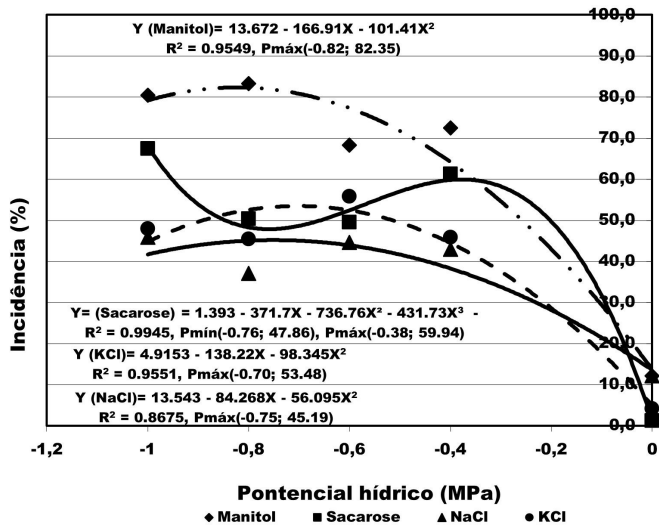


Figura 2. Incidência média de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* submetidos a diferentes potenciais e restritores hídricos, independente do isolado e concentração utilizada. NaCl = Cloreto de sódio; KCl = Cloreto de potássio.

Ao analisar a influência do potencial do restritor hídrico na incidência do FOL, observamos que houve um aumento crescente desta nos isolados FOL01 e FOL03, e após o potencial -0,4 MPa atingiu 60%. O isolado FOL02 apresentou um comportamento diferente dos demais, mantendo o percentual de incidência abaixo de 50% até o potencial -1,0MPa com tendência a subir a partir desse ponto (Figura 3).

Com o intuito de verificar se em concentrações menores do patógeno o método de papel de filtro com adição de restritores seria eficiente na detecção, observamos que na menor concentração (1x 10³ conídios/mL) o percentual médio de incidência foi em torno de 59-67%, independente do isolado de FOL e restritor empregado. Ao aumentar a concentração para 1x 10⁶ conídios/mL, houve uma ligeira queda na acurácia da detecção (Figura 4), mesmo assim a incidência ficou acima de 42%. É possível que essa redução na detecção tenha ocorrido devido ao fato de que

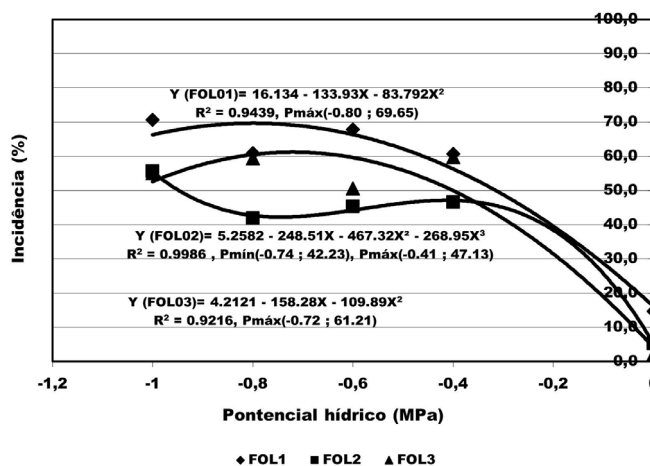


Figura 3. Incidência média de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* observados no método de papel de filtro com restritores hídricos em diferentes potenciais, independentemente do tipo de restritor e concentrações dos isolados usados.

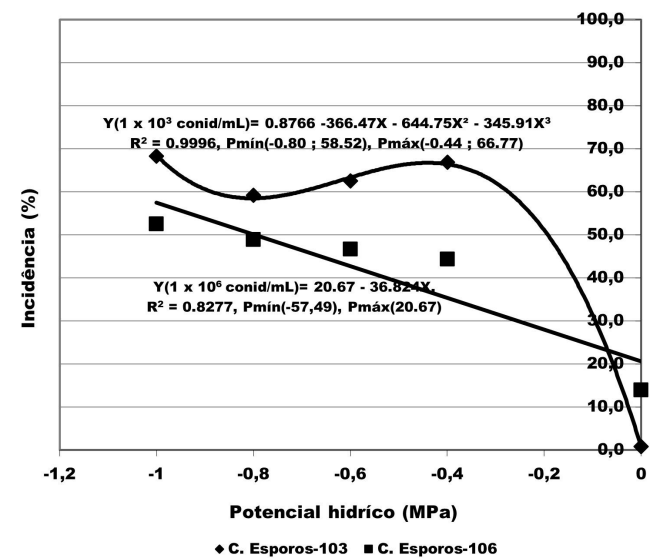


Figura 4. Incidência média (%) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em diferentes concentrações (conídios/mL) e potenciais hídricos, independente dos restritores e isolados do patógeno empregados.

altas densidades de inóculo podem produzir um efeito antagônico na germinação do esporo e/ou vários esporos que participam de um mesmo sítio de infecção. Nesse último caso, a severidade de doenças pode aumentar proporcionalmente com a concentração de esporos do patógeno até um determinado ponto, acima do qual, dependendo do patossistema, pode ocorrer uma redução, causada, provavelmente, pela autoinibição da germinação dos esporos, assim como pela existência de um número limitado de sítios de infecção (BARBA et al., 2004). Além disso, foram identificados os gêneros fúngicos *Cladosporium* e *Curvularia*, que podem ter interferido na incidência de FOL na dosagem mais alta. É sabido que inúmeros fungos produzem metabólitos secundários, enzimas e toxinas, e que, dependendo do meio de cultura ou substrato empregado, essa produção pode ser aumentada ou não. Já foram identificados diferentes metabólitos secundários produzidos pelo gênero *Curvularia*, bem como suas atividades biológicas dentre elas, fitotoxinas, antibiótica, antifúngica, antibacteriana entre outras (CRUZ, 2013). Uma espécie de *Cladosporium* é capaz de produzir metabólitos secundários, tais como antibióticos que inibem *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* (GALLO; SELDES; CABRERA, 2004).

Conclusões

O método de papel de filtro com adição de manitol foi mais eficiente na detecção, principalmente nos potenciais osmóticos de -0,8 e -1,0 MPa, sendo uma alternativa viável para detecção de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em sementes de tomate.

O método papel de filtro com adição de restritores, independentemente do tipo de restritor e isolado empregado, detectou o patógeno na menor concentração de inóculo (1×10^3 conídios/mL).

Referências

ARAÚJO, A. E. et al. Efeito de restritores hídricos sobre a germinação, comprimento da radícula e níveis de detecção de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em sementes de algodão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 79-83, 2012.

BARBA, J. T.; REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Efeito do substrato na morfologia de conídios de *Bipolaris sorokiniana* e da densidade de inóculo na intensidade da mancha marrom em cevada. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 29, p. 5-10, 2004.

BEZERRA, G. A. et al. Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa-RR. **Revista Agroecossistemas**, Belém, v. 5, n. 1, p. 68-73, 2013.

CANTERI, M. G. et al. SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, Ponta Grossa, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.

CELANO, M. M. et al. Avaliação do potencial de uso da restrição hídrica em teste de sanidade de sementes de trigo visando à detecção de fungos. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 613-618, 2012.

CRUZ, H. J. M. **Estudo químico e avaliação das atividades antimicrobianas, anticolinesterásica e larvicida do fungo *Curvularia lunata* e levantamento quimiotaconômico do complexo *Curvularia-Bipolaris-Cochliobolus***. 2013. 155 f. Dissertação

(Mestrado em Química)-Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/20687/1/Disserta%20c3%a7%20c3%a3_Completa_Henia_VF-2.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2021.

DUARTE, G. L. et al. Physiological quality of wheat seeds submitted to saline stress. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 1, p. 122-126, 2006.

FARIAS, C. J. et al. Inibição de germinação de sementes de trigo e milho em teste de sanidade em substrato de papel. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 2, p. 141-144, 2003.

FARIAS, C. R. J. et al. Crescimento radial de *Bipolaris sorokiniana* em resposta a indução de restrição hídrica por solutos osmóticos em meio agarizado. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n. 4, p. 457-460, 2004.

GALLO, M. L.; SELDES, A. M.; CABRERA, G. M. Antibiotic longchain and α,β -unsaturated aldehydes from the culture of the marine fungus *Cladosporium* sp. **Biochemical Systematics and Ecology**, Londres, v. 32, n. 6, p. 545-551, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/geratabela?name=Tabela%201.xlsx&format=xlsx&medidas=true&query=t/1612/n1/all/n2/all/n3/all/v/allxp/p/2020/c81/all/l/t%2Bp,v,c81>>. Acesso em: 17 nov. 2021.

JUNGES, E. et al. Water restriction and seed coating in the microbiolization of maize seeds with *Trichoderma* spp. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 5, n. 1, p. 18-25, 2014.

LOPES, C. A.; REIS, A.; BOITEUX, L. S. Doenças fúngicas. In: LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. (Org.). **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2005. p. 48-49.

MACHADO, J. C. et al. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 62-67, 2004.

MACHADO, J. C.; LANGERAK, C. C. J.; JACCOUD-FILHO, D. S. **Seed-borne fungi: a contribution to routine seed health analysis**. Zurich: ISTA, 2002. 138 p.

PAULA, G. F.; GEWEHR, E.; HENRIQUE LOPES CHAGAS, H. L.; ALMEIDA, A. S.; RODRIGUES, G. F. Restritores hídricos e seu uso na inibição da germinação de sementes de abóbora e tomate durante teste de sanidade. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 23, p. 1195-1202, 2016.

REIS, A.; LOPES, C. A. Doenças causadas por fungos e distúrbios fisiológicos. In: CLEMENTE, F. M. V. T.; BOITEUX, L. S. (Org.). **Produção de tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 179-202.

REY, M. S. et al. Crescimento micelial de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* sob diferentes potenciais hídricos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 3, p. 309-313, 2005.

SENIGALIA, R. L. C. et al. Restrição hídrica em teste de sanidade de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 49617-49627, 2020.

SILVA JÚNIOR, J. F. et al. Tomato seeds vigor under water or salt stress. **Brazilian Journal of Biosystems Engineerin**, Tupã, v. 8, n. 1, p. 65-72, 2014.

TORRES, S. B. Germinação e desenvolvimento de plântulas de melancia em função da salinidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 3, p. 68-72, 2007.