

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo
desta tese será
disponibilizado somente
a partir de 15/03/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Renato Tadeu Guerreiro

Tolerância do fitopatôgeno *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*
aos fungicidas na cultura do *Eucalyptus grandis*

São José do Rio Preto
2018

Renato Tadeu Guerreiro

Tolerância do fitopatôgeno *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* aos fungicidas na cultura do *Eucalyptus grandis*

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Eleni Gomes
Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo da Silva Viana

São José do Rio Preto
2018

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Guerreiro, Renato Tadeu

G934t

Tolerância do fitopatôgeno *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* aos fungicidas na cultura do *Eucalyptus grandis* / Renato Tadeu Guerreiro.

São José do Rio Preto : [s.n], 2018.
129 f. il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2018

Orientador: Prof. Dra. Eleni Gomes

Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo da Silva Viana

1. *Bacillus*. 2. Fitopatógenos. 3. Fungicida. 4. Germinação. I. T.

CDD 583.733

Renato Tadeu Guerreiro

Tolerância do fitopatôgeno *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* aos fungicidas na cultura do *Eucalyptus grandis*

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof.^a Dr^a. Eleni Gomes
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof.^a Dr^a. Ana Lucia Ferrarezi Duarte
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof.^o Dr Marcos Eustáquio de Sá, Título
UNESP – Câmpus de Ilha Solteira

Prof.^a Dr^a. Mayra Kassawara Martins
UNIP – Câmpus de Araçatuba

Prof.^a Dr^a. Valéria Garcia Pereira
FATEC- Câmpus de Araçatuba

São José do Rio Preto
15 de março de 2018

*Dedico este trabalho a minha mãe,
ao meu companheiro, demais familiares e
amigos que sempre me apoiaram e
contribuíram para realização desta
etapa. Obrigado a todos!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, a fé que me move, por encher minha vida de bênçãos, iluminar meu caminho e nunca deixar faltar força e coragem.

Aos meus orientadores Prof.^a Dra. Eleni Gomes e Prof. Dr. Ronaldo da Silva Viana, a confiança e a paciência, por todos os ensinamentos e a amizade construída.

A Fábio Henrique Mazocato, por me apoiar, pelo incentivo, paciência e o esforço na realização dos meus projetos.

A Prof.^a. Dra. Deuvânia Carvalho. Silva pela incrível ajuda e disposição em ajudar e contribuir para a conclusão de importantes etapas desta pesquisa.

Aos professores Dr. Giuliano Pierre Estevam, e a Dr.^a Daniela Russo Leite que permitiram meu afastamento parcial das aulas da Fatec Araçatuba para o meu crescimento pessoal e profissional, a Sandra Marcia Faria Rillo pela paciência enorme de realizar todo o processo.

A professora Dr.^a Valéria Garcia Pereira a professora Ana Maria Panho do Nascimento e o mestre Hildo Costa de Sena pela convivência, os conselhos e a colaboração. A incrível Taíse de Souza Romualdo que sempre colaborou e apoio em tudo que eu precisava para o desenvolver do experimento acreditando e me apoiando

A EMBRAPA MEIO AMBIENTE (Jaguariúna/SP) que concedeu cepas de *Fusarium oxysporum* da sua coleção de microrganismos de importância agrícola e ambiental (CMAA) e ao INSTITUTO OSVALDO CRUZ (Rio de Janeiro/RJ) que gentilmente

também concedeu cepas da sua Coleção de Culturas de Fungos Filamentosos (CCFF) de *Fusarium oxysporum* Schlecht. var. *oxysporum* Gerlach Et Nirenberg.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Campus de São José do Rio Preto, e ao Departamento de Biologia pela oportunidade de realização do doutorado.

A Fatec Araçatuba, pela infraestrutura disponibilizada.

A todos os amigos e familiares que tornaram meus dias mais felizes e contribuíram para o meu crescimento pessoal, principalmente aos meus sobrinhos Guilherme Guerreiro de Souza, que colaborou muito nas buscas e entregas de materiais acadêmicos e moradia e a Michelle Guerreiro Bordin por tomar conta das minhas meninas nas minhas viagens.

Aos membros da banca de defesa por terem aceitado o convite, pela leitura e discussão crítica que colaboram com o meu crescimento profissional e aperfeiçoamento do trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO

A presença de fungos fitopatógenos nas culturas têm ocasionado sérios problemas fitossanitários, com o objetivo de avaliar o efeito de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* na taxa de germinação e desenvolvimento de *Eucalyptus grandis* e a ação do tratamento químico com fungicidas comerciais no controle da incidência dos mesmos, que foram tratadas com os seguintes fungicidas nas respectivas doses de i.a./ 100 kg de sementes: Azoxystrobina + Difenconazol (45,0 mL), Captana (150,0 g), Carbendazim (500,0 g), Clorotalonil + Tiofanato metílico (500,0 mL), Fludioxonil (5,0 mL), Iprodiona (500 mL), Tebuconazole (5,0 mL), Thiabendazole (30,0 mL), Tiofanato metílico (75,0 mL) e Tolyfluanida (75,0 g). Nenhuma planta infectada sobreviveu por mais de 3 meses com a infecção. A altura das plântulas foi significativa com a infecção em relação ao controle, mas não diferem entre os patógenos. O fungicida Tebuconazole não afetou a presença de *Bacillus* no substrato fato que não ocorre com os outros testados. O fungicida triticonazole reduziu significativamente a incidência de *F. oxysporum* e *F. solani* nas sementes tratadas. O fungicida Iprodiona foi inferior aos demais fungicidas comportando-se de maneira negativa ao controle dos patógenos e as taxas de germinação. Houve influência dos fungicidas na germinação das sementes em relação ao controle. Na estufa agrícola a emergência e velocidade de emergência de plântulas, também não foram afetadas. A presença dos patógenos no substrato testado não foi detectada após 180 dias de tratamento. Os fungicidas fludioxinol, Thiabendazole, Tiofanato metílico e triticonazole controlaram os patógenos nos primeiros dias de tratamento, sem reincidências. Algumas doenças acometeram as mudas saudáveis tratadas no decorrer do desenvolvimento.

Palavras chaves: Fitopatógenos, *Bacillus*, fungicida, germinação

ABSTRACT

The presence of phytopathogenic fungi in crops has caused serious phytosanitary problems, in order to evaluate the effect of Fusarium oxysporum and Fusarium solani on the germination rate and development of Eucalyptus grandis and the chemical treatment with commercial fungicides in the control of the same, were treated with the following fungicides in the respective doses of 100 Kg of seeds: : Azoxistrobina + Difenconazol (45,0 mL), Captana (150,0 g), Carbendazim (500,0 g), Clorotalonil + Tiofanato metílico (500,0 mL), Fludioxonil (5,0 mL), Iprodiona (500 mL) , Tebuconazole (5,0 mL), Thiabendazole (30,0 mL), Tiofanato metílico (75,0 mL) and Tolyfluanida (75,0 g) No infected plant has survived for more than 3 months with the infection. The height of the seedlings was significant with the infection related to the control, but did not differ among the pathogens. The presence of Bacillus in the substrate was not affected by the Tebuconazole fact that does not occur with the others tested. The fungicide triticonazole significantly reduced the incidence of F. oxysporum and F. solani in the treated seeds. The fungicide Iprodiona was inferior to the other fungicides behaving in a negative way to control the pathogens and the germination rates. There was influence of the fungicides on the germination of the seeds related to the control. In the greenhouse the emergence and emergence speed of seedlings were also not affected. The presence of the pathogens in the substrate tested was not detected after 180 days of treatment, the fungicides Fludioxonil, Thiabendazole, methyl thiophanate and triticonazole controlled the pathogens in the first days of treatment, without relapses. Some diseases affected the healthy seedlings treated during the development.

Key words: Phytopathogens, Bacillus, fungicide, germination

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formas de macroconídios.....	35
Figura 2. Formas dos microconídios.....	36
Figura 3. Cepas de <i>Fusarium oxysporum</i> (IOC 4065) e <i>Fusarium solani</i> (IOC 3900)	54
Figura 4. Inoculações de <i>Fusarium oxysporum</i> em folhas de <i>Eucalyptus</i> “in vitro”	55
Figura 5. Inoculações de <i>Fusarium solani</i> em folhas de <i>Eucalyptus</i> “in vitro”	56
Figura 6. Morte de plântulas Infectado com cepas <i>F. solani</i> com 10 dias de plantio.....	58
Figura 7. Inoculações de <i>Fusarium oxysporum</i> em folhas de <i>Eucalyptus</i> “in vitro” com 7 dias.....	72
Figura 8. Inoculações de <i>Fusarium solani</i> em folhas de <i>Eucalyptus</i> “in vitro” com 7 dias	73
Figura 9. Inoculações de <i>Fusarium oxysporum</i> em folhas de <i>Eucalyptus</i> “in vitro” com 14 dias.....	74
Figura 10. Mudanças de <i>E. grandis</i> saudáveis com 10 dias de emergência	74
Figura 11. Mudanças de <i>E. grandis</i> infectada pelo <i>Fusarium solani</i> com 30 dias após contágio.....	75
Figura 12. Mudanças de <i>E. grandis</i> com sintomas do ataque pelo <i>Fusarium oxysporum</i> com 60 dias após contágio.....	77
Figura 13. Mudanças de <i>E. grandis</i> infectada pelo <i>Fusarium solani</i> após 90 dias do contágio.....	78
Figura 14. Mudanças de <i>E. grandis</i> infectada pelo <i>Fusarium oxysporum</i> após 180 dias do contágio.....	79

Figura 15. <i>E. grandis</i> , com 30 dias após plantio.....	81
Figura 16. Não emergência de sementes Infectadas com cepas <i>F. oxysporum</i> com 10 dias de plantio	81
Figura 17. Necrose da base da planta e das folhas decorrente a infecção de cepas <i>F. solani</i> aos 90 dias do experimento.....	83
Figura 18. Colonias de <i>Bacillus</i> extridas do tratamento com fungicida Tebuconazole aos 90 dias	92
Figura 19. Análise da presença ou ausência de <i>Bacillus</i> sp. e <i>Fusarium</i> sp. por meio da técnica molecular de PCR <i>nested</i> , em amostras de solo para o preparo do cultivo de Eucalipto.....	94
Figura 20. Resultado da análise molecular por meio de PCR <i>nested</i> para detecção de <i>Fusarium solani</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> após 10 dias, em amostras de solo tratadas com fungicidas.....	96
Figura 21. Resultado da análise molecular por meio de PCR <i>nested</i> para detecção de <i>Fusarium solani</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> após 30 dias, em amostras de solo tratadas com fungicidas.....	98
Figura 22. Resultado da análise molecular por meio de PCR <i>nested</i> para detecção de <i>Fusarium solani</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> após 90 dias, em amostras de solo tratadas com fungicidas.....	100
Figura 23. Resultado da análise molecular por meio de PCR <i>nested</i> para detecção de <i>Fusarium solani</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> após 180 dias, em amostras de solo tratado com fungicidas.....	102

Figura 24. Resultado da análise molecular por meio de PCR nested para detecção de <i>Fusarium solani</i> e <i>Fusarium oxysporum</i> após 360 dias, em amostras de solo tratadas com fungicidas.....	104
Figura 25. Muda de <i>Eucalyptus grandis</i> com cerca de 180 dias, infectadas por <i>F. oxysporum</i> tratadas com fungicidas do grupo químico Benzimidazol de com manchas foliares.....	111
Figura 26. Muda de <i>Eucalyptus grandis</i> com cerca de 180 dias, infectadas por <i>F. solani</i> e tratadas com fungicidas do grupo químico Benzimidazol de com manchas foliares.....	112
Figura 27. Muda de <i>Eucalyptus grandis</i> com cerca de 180 dias, infectadas por <i>F. solani</i> e tratadas com fungicidas do grupo químico Triazol com manchas foliares	113
Figura 28. Muda de <i>Eucalyptus grandis</i> com cerca de 180 dias, infectadas por <i>F. solani</i> e tratadas com fungicidas do grupo químico Triazol com manchas foliares	113
Figura 29. Folha de Eucalipto necrosada.....	114

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Espécies de <i>Fusarium</i> e teleomórficos relatadas no Brasil e seus hospedeiros	37
Quadro 2. Fungicidas utilizados nos bioensaios do controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> spp.....	40
Quadro 3. Fungicidas utilizados nos bioensaios do controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i>	71
Quadro 4. Número de plântulas do <i>E. grandis</i> com 30 dias e 90 dias.....	82
Quadro 5. Alturas médias do <i>E. grandis</i> , em cm das mudas com 30 dias e 90 dias após plantio.....	87
Quadro 6. Amostras de solo tratados com fungicidas para o controle de <i>Fusarium</i> , a marca x indica a presença do patógeno decorrente da análise do DNA da amostra.....	88
Quadro 7. Análise da presença do gênero <i>Bacillus</i> e, amostras de solo tratados com fungicidas comerciais pro um periodo de 10, 30, 90, 180 e 360 dias.....	90
Quadro 8. Relação dos tratamentos com fungicidas comerciais na análise molecular por meio de PCR nested um periodo de 10 dias.....	95
Quadro 9. Relação dos tratamentos com fungicidas comerciais na análise molecular por meio de PCR nested um periodo de 30 dias.....	97
Quadro 10. Relação dos tratamentos com fungicidas comerciais na análise molecular por meio de PCR nested um periodo de 90 dias.....	99
Quadro 11. Relação dos tratamentos com fungicidas comerciais na análise molecular por meio de PCR nested um periodo de 180 dias.....	101

Quadro 12. Relação dos tratamentos com fungicidas comerciais na análise molecular por meio de PCR nested um período de 360 dias.....103

Quadro 13. Fungicidas utilizados nos bioensaios do controle *in vitro* de *Fusarium*105

LISTA DE GRAFICO

Gráfico 1. Altura média das plântulas de eucalipto sem fungicidas (controle) e com fungicidas no controle de patógenos (*F. oxysporum* e *F.solani*) segundo a semana mensurada e seu respectivo erro padrão da média.....85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Os meios de culturas utilizados na identificação de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* e suas características.....42

Tabela 2. Altura média das plântulas de eucalipto sem fungicidas (Controle) e com fungicidas no controle de patógenos (*F. oxysporum* e *F.solani*) em diferentes semanas e seu respectivo desvio padrão e o coeficiente de variação.....86

Tabela 3. Porcentagem de fungos e de germinação de sementes de *E. grandis* infectadas com *F. oxysporum* e *F. solani*, tratadas ou não com fungicidas.....108

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA = ágar-água

ADE = água destilada estéril

AN = ágar nutritivo

AS = solo-ágar

ASF = ágar seletivo de *Fusarium*

BDA = meio batata-dextrose-ágar

CLA = carnation-leaf-ágar

DBO = (demanda bioquímica de oxigênio) ou BOD (biochemical oxygen demand)

DCPA = dicloran cloronfenicol peptona ágar

EC = concentrado emulsionável

EMBRAPA = Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FCA = folha de cravo-ágar

FDA = food and drug administration

MA = metodo de Komada

NSA = nutriente sintético ágar

PCR = polymerase chain reaction (reação de polimerização em cadeia)

PPA = peptona ágar

SC = suspensão concentrada

TWEEN 20 = polyoxyethylene sorbitan monolaurate (monolaurato de polioxietileno sorbitano)

UV = ultravioleta

VMA = verde malaquita ágar

V8-A = V8-ágar

WP = pó molhável

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO.....	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 Aspectos gerais do Eucalipto.....	23
2.2 Doenças da cultura.....	25
2.2.1 Tombamento de mudas.....	26
2.2.2 A podridão da raiz	26
2.2.3 Mofo cinzento.....	27
2.2.4 Podridão de Estacas.....	27
2.2.5 Esporotricose	28
2.2.6 Odio.....	28
2.2.7 Enfermidade rosada ou rubelose.....	29
2.2.8 Cancro	29
2.2.9 Ferrugem.....	30
2.2.10 Manchas foliares de <i>Cylindrocladium</i>	30
2.2.11 Podridação do cerne.....	31
2.2.12 Doenças foliculares secundárias.....	32
3. O Gênero <i>Fusarium</i>	33
4. SUBSTRATO SUPRESSIVO.....	44
4.1 Mecanismos de supressividade.....	46
4.2 Mecanismos bióticos envolvidos na supressão de fitopatógenos.....	46
4.3 Organismos do substrato envolvidos na supressão de fitopatógenos.....	47

4.4 Fungos.....	47
4.5. Mecanismos abióticos atuantes na supressão de fitopatógenos.....	48
4.6 Formação de supressividade em solo.....	50
4.7 Técnica da solarização	51
5 OBJETIVOS.....	53
5.1 Objetivo geral.....	53
5.2 Objetivos específicos.....	53
6 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
6.1 Locais do experimento.....	53
6.2 Inoculações em folhas de <i>Eucalyptus</i> “in vitro”	56
6.3 Obtenção de isolados de <i>Fusarium</i>	58
6.4 Análises Realizadas nas Plantas e nos Substratos	60
6.5 Obtenção de culturas monospóricas e conservação dos isolados.....	61
6.6 Atividade Microbiana.....	63
6.7 Extração de DNA e análise dos isolados.....	64
6.7.1 PCR (reação em cadeia de polimerase) e sequenciamento.....	67
6.8 Inoculação Em Sementes e Avaliação Na Taxa De Germinação.....	69
6.9 Fungicidas Comerciais Testado “in vitro”	70
6.10 Análise estatística.....	71
7.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
8 CONCLUSÃO.....	116
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	117
REFERÊNCIAS	118

1 – Introdução

A rizosfera é uma região do solo onde está localizado o sistema radicular das plantas o qual libera para o solo de 50 a 100 mg.g⁻¹ de raiz/dia de vários produtos orgânicos, tais como o mucigel e exsudatos, permitindo o desenvolvimento de um ecossistema microbiano muito especializado, que abriga populações de 10 a 100 vezes maiores ao solo adjacente (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Há no solo ainda a região da termitosfera e drilosfera, aonde pode ser encontrada uma diversidade de microorganismo tão vasta quanto desconhecida (ZILLI et al., 2003).

A presença de matéria orgânica no solo em decomposição representa a principal fonte de carbono para estes microrganismos de solo, a qual sofre influência direta do metabolismo das raízes. Quando é analisada a presença de patógenos microbianos e fungos fitopatogênicos, estes podem apresentar uma maior quantidade devido a sua intensa complexidade sendo que nestes ambientes apresentam uma vasta quantidade de matéria orgânica, fundamental para seu desenvolvimento (GRAYSTON; JONES, 1996).

Neste conjunto de informações os fungos do gênero *Fusarium* spp., demonstram excepcional grupo de agentes patógenos, ocasionando múltiplas perdas em cultivares diversos em todos os continentes, devido ao fato de possuírem diversos hospedeiros e apresentar várias especializações.

Para o controle destes fungos são utilizados fungicidas que são produtos químicos capazes de prevenir a infecção de tecidos de plantas. O conceito para

fungicidas corresponde a compostos químicos empregados no controle de doenças causadas por fungos (EMBRAPA, 1999).

Pode ocorrer a interrupção da doença por um período e a mesma retornar, pois alguns fungicidas, apenas inibem, temporariamente, a germinação dos esporos. Processo denominado "Fungistase" sendo os compostos químicos com esta ação classificados como "Fungistáticos". Há outros fungicidas denominados "Anti-esporulantes" com ação fungitóxica, os quais inibem ou previnem a produção de esporos, sem alterar o crescimento vegetativo do micélio do fungo.

É necessário conhecer a propriedade química dos fungicidas que são constituídos de duas partes: seu princípio ativo, que atua na ação do composto e o princípio inerte que atua como veículo e diluente para o princípio ativo (EMBRAPA, 1999).

Novas estratégias na área de biotecnologia estão em desenvolvimento, mas ainda há um crescente aumento no uso de pesticidas como forma de controle de pragas e doenças. Entretanto, alguns pesticidas, são persistentes no ambiente possuindo grande mobilidade e capacidade de se acumular nos tecidos animais e assim provocar sérias alterações, entre elas mutações decorrentes deste efeito acumulativo.

A degradação destes compostos tem sido trabalhada de modo natural através de microrganismos capazes de realizar processos de biorremediação. Um exemplo é a capacidade de alguns fungos da podridão branca em degradar vários poluentes xenobióticos e recalcitrantes despertarem grande interesse nas pesquisas das áreas de Microbiologia Industrial e Ambiental (COELHO et al., 2010).

Entretanto tem se observado um aumento crescente da tolerância aos fungicidas, relatado em diversos gêneros de fungos patogênicos, tanto de interesse médico como agrícola fato que vem despertado a criação de novas estratégias para o controle desses patógenos.

Tendo em vista essas considerações, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação infectante de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* na cultura do *Eucalyptus grandis*, e tolerância deles aos fungicidas utilizados no controle, verificando sua capacidade de interferência nas taxas de germinação e desenvolvimento de mudas, para possíveis aplicações em processos de biotecnologia e biorremediação.

8 CONCLUSÃO

Foi comprovado que os isolados de *F. solani* e *F. oxysporum* foram patogênicos ao *E. grandis*, permitindo concluir também que: os fungicidas Triticonazole, Azoxistrobina + Ciproconazol, Carbendazim, Triabendazole e Tiofanato metílico reduziram a incidência de *F. oxysporum* e os fungicidas Triabendazole, Triticonazole, Azoxistrobina + Ciproconazol, Tiofanato Metílico e Carbendazim reduziram a incidência de *F. solani* em sementes de eucalipto.

Os fungicidas Iprodiona, Cloratalonil + Tiofanato Metílico avaliados influenciaram de modo negativo na germinação de plântulas.

Sempre é bom salientar que para um controle químico eficaz de patógenos é necessário utilizar a dose recomendada pelo fabricante, a frequência a ser aplicada e um monitoramento do cultivar entre outros cuidados de acordo com o patógeno em questão.

Esses resultados demonstraram alta sensibilidade dos isolados de *F. oxysporum* e *F. solani* aqui testados ao princípio ativo de fungicida Triticonazole sendo um produto capaz de inibir isolados que apresentaram alta sensibilidade aos fungicidas do grupo dos estrobilurinas.

Na avaliação do antagonismo *in vitro*, foi possível observar o efeito dos tratamentos com isolados de *Bacillus sp.* sobre o controle de *F. oxysporum* e *F. solani*, mas não foi determinada as espécies deste gênero, e sim que estas não são resistentes em solos com ação de fungicidas químicos, já na estufa agrícola não ocorreu este antagonismo.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além dos itens citados, o estudo da interação dos fungos/bactérias/fungicidas/solo com as plantas é muito amplo, não se tendo conhecimento de toda a relação desenvolvida entre as partes, ficando evidente a necessidade de outros estudos para ratificar a utilização de fungicidas químicos no controle de fungos para aumentar a produtividade agrícola.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. AGROFIT. Brasília, 2012. Disponível em: :<<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 18 set. 2015.
- ALEXANDER, M. Biodegradation of chemical of environmental concern. Science, Washington, v. 211, p. 132-138, 1981.
- ALFENAS, A. C. et al. *Sporothrix eucalypti*, um novo patógeno do eucalipto no Brasil. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 26, n. 2, 2001.
- AMORIM, L. et al . Manual de fitopatologia. [S. l: s. n.], 2011.
- ANIMISHA, S. Z.; JAISWAL, K. K.; PANDEY, P. Integrated management of chickpea wilt incites by *Fusarium oxysporum f. sp. Ciceris*. International Journal of Agricultural Research, New York, v. 7, n. 5, p. 284-290, 2012.
- APARECIDO, C. C.; FINATTI, D. Impacto do gênero *Cylindrocladium* para seis diferentes culturas. São Paulo, Instituto Biológico, 2012. Disponível em:<http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=17 >. Acesso em: 10 jul. 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS (ABRAF). Anuário estatístico da Abraf 2013 ano base 2012. Brasília, 2013.
- AUER, C. G.; SANTOS, A. F. Cultivo de eucalipto: doenças e outras desordens. Colombo, Embrapa Florestas, 2010. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto/index.htm> >. Acesso em: 10 jul. 2014.

AUER, C. G.; SANTOS, A. F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Cultivo de eucalipto. Colombo, Embrapa Florestas, 2003. Disponível em: <
http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Eucalipto/CultivodoEucalipto/07_doencas_de_eucalipto.htm >. Acesso em: 14 jul. 2014.

BARRETO, S. S.; RESENDE, M. L. V.; BOAS, C. V. Efeito de fungicidas sobre *Fusarium oxysporum f. sp. Gladioli*: (resumo). Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, supl., 2003.

BEDENDO, I. P. Damping off. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2011. v. 1, cap. 22.

BETTIOL, W.; & FERNANDES, S. A. P. Efeito do lodo de esgoto na comunidade microbiana e atributos químicos do solo. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 5p. (Comunicado técnico, 24).

BETTIOL, W.; & GHINI, R. Solos supressivos. In: MICHEREFF, F.; ANDRADE, D. E. G. T.; & MENEZES, M. (Ed.s.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. pp. 125-152.

BERTOLA, A. Eucalipto: verdades e mentiras. 2005. Disponível em: <
http://www.celuloseonline.com.br/dr_celulose_files/dc009.pdf >. Acesso em: 13 jul. 2015.

BOOTH, C. The genus *Fusarium*. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 327 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Convenção de Viena e protocolo de Montreal. Brasília, Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/clima/protecao-da-camada-deozonio/convencao-de-viena-e-protocolo-de-montreal>>. Acesso em: 18 jun. 2016.

BURGESS, L. W. et al . Laboratory manual for *Fusarium* research. 3rd ed. Sydney: University of Sydney/Royal Botanic Gardens (p 4, 8, 9), 1994.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. Microbiologia do solo. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992.

COELHO, J. S. et al . Effect of the herbicides bentazon and diuron on the production of ligninolytic enzymes by *Ganoderma lucidum*. International Biodeterioration & Biodegradation, London, v. 64, p. 156-161, 2010.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA (CIB), 2008. Disponível em: <http://cib.org.br/wp-content/uploads/2011/10/Guia_do_Eucalipto_junho_2008.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2014.

COSTA, M. L. N. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 27, p. 1023-1030, 2003.

COTTERILL, P. P.; BROLIN, A. Improving Eucalyptus wood, pulp and paper quality by genetic selections. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPT, 1997, Salvador. Proceedings... Colombo: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, 1997. p. 1- 13.

CRONQUIST, A. Na integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. 1981 .

DA SILVEIRA, S. B.; Toxicidade do tebuconazol em quatro espécies fitoplanctônicas dulcícolas subtropicais. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande, 2012. Disponível em: <<http://www.argo.furg.br/bdtd/0000010069.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2016.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. Basic plant pathology methods. Boca Raton: CRC Press, 1995.

DIAS, A. C. R. Controle químico de doenças de *Eucalyptus spp.* em viveiros e seus efeitos morfo-fisiológicos. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA(EMBRAPA). Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. Brasília, 1999. Disponível em: <http://www.cpafo.embrapa.br/media/arquivos/publicacoes/FOL_5993_0001.pdf>. Acesso em: 08 de jul. 2014.

EMBRAPA FLORESTAS. Colombo, 2003. Disponível em:<<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/publica.htm>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

FERREIRA, F. A. Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1989.

FERMINO, M. H. Aproveitamento de resíduos industriais e agrícolas como alternativas de substratos hortícolas. 1996. 90 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.

FISHER, N. L. et al. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 72, n. 1, p. 151-153, 1982.

FOELKEL, C. E. B.; BUSNARDO, C. A.; RECH, B. O fenômeno de apodrecimento central do cerne de árvores vivas de *Eucalyptus*: qualidade da madeira. *IPEF*, Piracicaba, n. 33, p. 31-38, 1986.

FONTENO, W. C. Growing media: types and physical/chemical properties. In: REED, D. W. (Ed.). *A growers guide to water, media, and nutrition for greenhouse crops*. Batavia: Ball, 1996. p. 93-122.

FRAVEL, D.; OLIVAIN, C.; ALABOUVETTE, C. *Fusarium oxysporum* and its bio-control. *New Phytologist*, Cambridge, v. 157, p. 493-502, 2003.

FREITAS, T. A. S. et al. Efeito da poda de raízes sobre o crescimento das mudas de eucalipto. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 19, p. 1-6, 2009.

FURTADO, E. L.; SAMBUGARO, R. Identificação de doenças do *Eucalyptus* spp. e coleta de materiais. Piracicaba: Equilíbrio Proteção Florestal, 28 p, 2005.

FURTADO, E. L.; et al. *Fusarium solani*, novo patógeno causando mofo cinzento em painel de seringueira, no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 26, p. 439, 2001.

GARCIA, E. S. Biodiversity, biotechnology and health. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 495-500, 1995.

GARCIA, R. et al. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GAUR, P. M et al. Chickpea seed production manual. India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 2010.

GHINI, R. Coletor solar para desinfestação de substratos para produção de mudas sadias. Circular Técnica/ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 4V. 2004.

GHINI, R.; BETTIOL, W.; HAMADA, E. Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: current knowledge and perspectives. Plant Pathology, -Nottingham, v. 60, p. 122-132, 2011.

GHINI, R. et al. Incubation period of *Hemileia vastatrix* in coffee plants in Brazil simulated under climate change. Summa Phytopathologica, Botucatu, v. 37, p. 85-93, 2011.

GRAYSTON, S. J.; JONES, D. V. D. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with an annual plant: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. Applied Soil Ecology, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 29-56, 1996.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; BIZI, R. M.; AUER, C. G. *Oidium* sp. em mudas de eucalipto. Comunicado Técnico/Embrapa Florestas, Colombo, n. 144, Colombo: Embrapa, 2005.

GHINI, R. Coletor solar para desinfestação de substratos para produção de mudas sadias. Circular Técnica/ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 4V. 2004.

GUPTA, V. K.; MISRA, A. K.; GAUR, R. K. Growth characteristics of *Fusarium* spp. causing wilt disease in *Psidium guajava* L. in Índia. Journal of Plant Protection Research, Cambridge, v. 50, p. 451-462, 2010.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, Oxford, v. 41, p. 95-98, 1999.

HARMAN, G. E. et al. Trichoderma species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews. Microbiology, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HAWKSWORTH, D. L. et al. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. New York: CAB International, 1995. 616 p.

HOPER, H.; ALABOUVETTE, C. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soils to plant diseases. European Journal of Soil Biology, Oxford, v. 32, p. 41-58, 1996.

HORNBY, D. Suppressive soils. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v. 21, p. 65- 85, 1983.

JOLY, A. B. Botânica, introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: EDUSP, 1966. v.4, 634 p.

JULIATTI, F. C. et al. Avaliação de fungicidas na parte aérea na redução dos grãos ardidos e incidência de fungos, Horizonte Científico, Uberlândia, Disponível em: <
www.seer.ufu.br/index.php/horizontecientifico/article/viewFile/.../3004>. Acesso em: 14 jul. 2014.

KÄMPF, A. N. Substrato. In: KÄMPF, A. N. (Coord.). Produção comercial de plantas ornamentais. Guaíba: Agropecuária, 2000a.

KÄMPF, A.N. O uso de substrato em cultivo protegido no agronegócio brasileiro. Campinas: Instituto Agrônomo, 2002b. (IAC. Documentos, 70).

KATAN, J. et al. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. *Phytopathology*, Saint Paul, p. 683-688, 1976.

KENNEDY, N.; CLIPSON, N. Fingerprinting the fungal community. *Mycologist*, New York, v. 17, n. 2, p. 158-164, 2003.

KRÜGNER, T. L.; CARVALHO, P. C. L. Ensaios em condições de casa de vegetação para controle químico do "damping-off" em *Eucalyptus saligna*. *IPEF*, Piracicaba, n. 2/3, p. 97-113, 1971.

LANDA, B. B.; NAVAS-CORTÉS, J. A.; e JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 94, p. 946-960, 2006.

LEONI, C.; GHINI, R. Efeitos do lodo de esgoto na indução de supressividade de solos a *Phytophthora nicotianae* em citros. In: BETTIOL, W.; & CAMARGO, O. A. Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. p. 255-290.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing, 2006.

LIBERATO, J. R.; COSTA, H; VENTURA, J. A. Índice de doenças de plantas do Estado do Espírito Santo. Vitória: EMCAPA. 1996.

MARUTHIAH, T. et al. Purification and characterization of moderately halophilic⁸⁶ alkaline serine protease from marine *Bacillus subtilis* AP-MSU 6. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Amsterdam, v. 2, n. 2, p. 116–119, 2013.

MENDES, M. A. S.; et al. Fungos em plantas no Brasil. Brasília: EMBRAPA-SPI: EMBRAPA- CENARGEN, 1998.

MOHAMMADI, H; BANIHASHEMI, Z. Distribution, pathogenicity and survival of *Fusarium* sp. the causal agents of chickpea wilt and root rot in the fars province of Iran. *Journal of Plant Pathogen*, [S. l.], v. 41, p. 687-708, 2006.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 2006.

MORAES, M. H. D. et al. Efeito do tratamento químico na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de trigo. *Informativo Abrates*, Brasília, v. 7, n. 1/2, p. 141, 1997.

MÜLLER, J. J. V. Utilização de substrato na olericultura. In: KÄMPF, A. N.; FIRMINO, M. H. Substrato para plantas: a base da produção vegetal em recipientes. Porto Alegre: Editora Genesis, 2000. p. 159-162.

NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; & MARASAS, W. F. O. *Fusarium* species an illustrated manual for identification. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1983.

PAIVA, C. C. Crescimento inicial de eucalipto em Alegre, Espírito Santo. 2011. 48 f. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre.

PATRICIO, F. R. A. et al. Avaliação da solarização do solo para o controle de *Ralstonia solanacearum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 5, p. 475-481, 2005.

POTERCORVO, G. et al. The genetis of *Aspergillus nidulas*. Advances in Genetics, New York, v. 5, p. -140-148, 1953.

RICCI, M. S. F. et al. Produção da cenoura e efeito na fertilidade do solo e nutrição decorrente da solarização do solo para controle da tiririca. Bragantia, Campinas, v. 65, n. 4, p. 607- 614, 2006.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 30, p. 1-3, 2014.

RÖBER, R. Substratos hortícolas: possibilidades e limites de sua composição e uso: exemplos da pesquisa, da indústria e do consumo. In: KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. (Ed.). Substratos para plantas: a base da produção vegetal em recipientes. Porto Alegre: Genesis, 2000. p 209-215.

SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle. Circular Técnica/Embrapa Florestas, Colombo, 45V. 2001.

SCHULTZ, B. Levantamento de doenças bióticas e abióticas em *Eucalyptus benthamii* Maiden nos Estados do Paraná e Santa Catarina. 2012.101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná.

SILVA, R. E. Exsudação radicular e sua utilização por rizobactérias. 2011. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical Instituto Agrônômico, Campinas.

SILVA, H. D. O Eucalyptus na silvicultura brasileira e no mundo. Folha da Floresta, Colombo, ago. 1997. Edição especial.

SILVEIRA, R. L. A. et al. Seja o doutor de seu eucalipto: nutrição e adubação. Arquivo do Agrônomo, [S. L.], n. 93. p. 1-23, 2001.

SINGH, G. et al .Diseases and their management. Chickpea breeding and management. CAB International, p. 497-519. 2007.

TELES NETO, F. X. B. Transmissão e controle de *Fusarium graminearum* em sementes e danos causados pela giberela em trigo. 2004. 113 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

THOMPSON, J. D. et al. The clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality tools. Nucleic Acids Research, Oxford, v. 24, p. 4876-4882, 1997.

TOUSSON, T.; & NELSON, P. E. Variation and specialization in the Fusaria. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto v. 13, p. 71-82, 1975.

VELLINI, A. L. T. T. et al. Respostas fisiológicas de diferentes clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. Revista Árvore, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 651-663, 2008.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: I: história, meios e procedimentos de cultivo. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, v. 7, 271-297, 1999.

VON PINHO, E. V. R. et al. Efeitos do tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 17, n. 1, p. 23-28, 1995.

WILCKEN, C. F. Danos de cupins subterrâneos *Corniterme ssp.* (Isoptera Termitidae) em plantios de *Eucalyptus grandis* e controle com inseticidas no solo. In: BERTI FILHO, E. (Coord.). Manual de pragas em florestas: cupins e térmitas. Piracicaba: IPEF; Viçosa: SIF, 1992. v. 3.

WILCKEN, C. F. et al. Plagas exóticas de importância em *Eucalyptus* en Brasil. In: JORNADA FORESTALES DE ENTRE RIOS, 23, 2008, Concordia. Resumos... Concordia: 2008.

ZILLI, J. E. et al. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v. 20, n. 3, p. 391-411, 2003.

ZOLAN, M. E; PUKILLA. P. J. Inheritance of DNA methylation in *Coprinus cinereus*. Molecular and Cellular Biology, Washington, v. 6, p. 195-200, 1986.