

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/05/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



MARÍLIA PIZETTA

**CARACTERIZAÇÃO DE *Fusarium decemcellulare*, *F. oxysporum* E
F. incarnatum EM SERINGUEIRA NO ESTADO DE SÃO PAULO, RESISTÊNCIA
CLONAL E SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS**

Botucatu

2017

MARÍLIA PIZETTA

**CARACTERIZAÇÃO DE *Fusarium decemcellulare*, *F. oxysporum* E
F. incarnatum EM SERINGUEIRA NO ESTADO DE SÃO PAULO, RESISTÊNCIA
CLONAL E SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp Câmpus de
Botucatu, para a obtenção do título de
Doutora em Ciência Florestal

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Furtado

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P695c Pizetta, Marília, 1988-
Caracterização de *Fusarium decemcellulare*, *F. oxysporum* e *F. incarnatum* em seringueira no Estado de São Paulo, resistência clonal e sensibilidade a fungicidas / Marília Pizetta. - Botucatu : [s. n.], 2017
111 p. : il. color., graf. s., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2017
Orientador: Edson Luiz Furtado
Inclui bibliografia

1. *Fusarium* 2. Fungos - controle. 3. Seringueira - Cultivo. I. Furtado, Edson Luiz. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "CARACTERIZAÇÃO DE *Fusarium decemcellulare*, *F. oxysporum* E *F. incarnatum* EM SERINGUEIRA NO ESTADO DE SÃO PAULO, RESISTÊNCIA CLONAL E SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS"

AUTORA: MARILIA PIZETTA

ORIENTADOR: EDSON LUIZ FURTADO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA FLORESTAL, pela Comissão Examinadora:



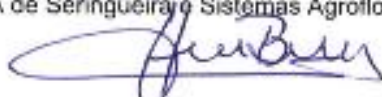
Prof. Dr. EDSON LUIZ FURTADO
Departamento de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP



PROF. DR. NELSON SIDNEI MASSOLA JUNIOR
Departamento de Fitopatologia / ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA



Dr. ERIVALDO JOSÉ SCALOPPI JUNIOR
Centro APTA de Seringueira e Sistemas Agroflorestais / Instituto Agronômico de Campinas



Dr. CÉSAR JUNIOR BUENO
Instituto Biológico / Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA)



Prof. Dr. EDUARDO BAGAGLI
Departamento de Microbiologia e Imunologia / Instituto de Biociências do Câmpus de Botucatu da UNESP

Botucatu, 26 de maio de 2017.

*A Deus, por mais uma conquista em minha vida
À minha mãe Maria Luiza, por sempre acreditar em mim
Ao meu amor Matheus, por sempre estar ao meu lado*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em todos estes anos, proporcionou-me saúde para trilhar um caminho de muito aprendizado e lições.

À minha família, em especial a minha mãe, por todo o apoio e incentivo aos estudos, seguindo sempre sonhando, ensinando, lutando, torcendo e crescendo junto comigo, transformando os desafios em lições de vida e maturidade.

Ao meu amor Matheus, por estar presente em todos os momentos da minha pós-graduação, aconselhando-me, encorajando-me, fortalecendo-me para que eu alcance mais esta conquista.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Luiz Furtado, por uma década de aprendizagem e oportunidades durante minha formação profissional na FCA/Unesp e ensinar a Fitopatologia de uma forma prazerosa e bem-humorada.

À Dra. Martha Passador e ao Dr. Júlio Marubayashi por acreditarem em mim e permitirem vivenciar uma das melhores experiências da minha vida.

Ao MSc. Helio Makoto Umemura por todo o suporte oferecido para a realização do intercâmbio e todas as dicas importantíssimas para a minha adequação ao estilo de vida japonês.

À Profa. Dra. Izabel Cristina Takitane pelo seu exímio trabalho como representante do convênio entre TUAT Nokodai e FCA/Unesp, proporcionando a tantos alunos, oportunidades de crescimento profissional e pessoal.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), pela autorização de exportação do material para a pesquisa utilizado durante o intercâmbio.

Ao meu supervisor na TUAT, Prof. Dr. Tsutomu Arie, pelo interesse no meu trabalho e por todo o suporte financeiro e intelectual durante a realização do intercâmbio.

A todos os professores e funcionários da seção de intercâmbios da TUAT, pelo aprendizado e suporte aos alunos. Aos colegas do Laboratório de Proteção de Plantas, pela amizade, em especial, ao Takeshi Kashiwa e Yu Ayukawa pelas orientações e Sumika Abo e Chisato Mouri pelo aprendizado técnico.

Ao Coordenador do PPG – Ciência Florestal, Prof. Dr. Iraê Amaral Guerrini, e a secretária do Programa, Thaís Tavares, pelos serviços e suporte financeiro para a realização desta pesquisa.

A todos os professores e funcionários da FCA/Unesp por todo o conhecimento transmitido e suporte aos alunos da pós-graduação.

À Profa. Dra. Maria Marcia Pereira Sartori pelo suporte estatístico.

À Fazenda Aphidias em Pirajuí-SP, pela coleta de isolados fúngicos. Ao Diogo Esperante por compartilhar sua rede de contatos em prol do incentivo a pesquisa com seringueira. Aos viveiristas Clóvis Nakano, Guilherme Guiducci, Percy Putz e Gilson Azevedo pela doação das mudas para o teste de resistência clonal.

À amiga Caroline Pierozzi, parceira de todas as horas, por todo auxílio, dedicação e motivação pela pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Patologia Florestal da FCA pelos momentos agradáveis de trabalho e amizade durante todos esses anos.

À Faculdade de Ciências Agronômicas que me acolheu nesses 11 anos, abrindo portas e transformando minha vida profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

Aos membros da banca examinadora pelo aceite e contribuições para o trabalho.

Muito obrigada!

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”

Cora Coralina

RESUMO

A heveicultura é de grande importância para o estado de São Paulo, especialmente, no Planalto Paulista. Representa uma das culturas florestais mais plantadas no país, tendo como principal objetivo, a extração do látex, que serve como fonte de matéria-prima para confecção de produtos para as indústrias pneumáticas, hospitalares, calçadistas, etc. Porém, pelo cultivo em caráter perene, o gênero *Hevea* sofre com o ataque de patógenos, principalmente, fungos. A fusariose, causada por *Fusarium* spp., é uma doença descrita recentemente, que afeta a casca das plantas adultas, interferindo na exploração de látex pelos produtores. Os sintomas surgem como trincas no caule, seguidos de necrose na casca, podendo causar o “secamento” do látex da árvore e, conseqüente, morte da planta. Mesmo sabendo-se da importância dessa doença afetando plantações de seringueira, há poucos estudos na literatura sobre os agentes causais, seu comportamento, resistência genética e outras formas de controle da doença. Portanto, no presente estudo objetivou-se caracterizar patogenicamente, morfológicamente e molecularmente 51 isolados de *Fusarium* spp., realizando, também, teste de resistência clonal e testando diferentes ingredientes ativos no controle “*in vitro*” dos isolados patogênicos. Para a caracterização morfológica dos esporos, foram avaliados a forma, o tamanho e o número de septos, os tipos de clamidósporos, a formação das fialides e conidiogênese dos microconídios e mesoconídios. A caracterização cultural avaliou a taxa de crescimento micelial, presença ou ausência de esporodóquios e a coloração das colônias. Os estudos moleculares abrangeram análises filogenéticas do DNA dos isolados para as regiões rDNA ITS, rDNA IGS, gene TEF1- α e gene H3. No teste de resistência clonal, foram avaliados diferentes materiais clonais de seringueira quanto à resistência a *Fusarium* spp., sendo utilizados os clones RRIM 600 (produzido em substrato), RRIM 600 (produzido em solo - controle), IAC 502, IAC 511, IRCA 111, PB 350, PR 255, RRIM 937 (produzidos em solo), todos provenientes de enxertia. Para o teste de controle “*in vitro*”, foram testados oito produtos comerciais e um ativador de plantas, com os seguintes princípios ativos: clorotalonil, tiofanato metílico, tiofanato metílico + clorotalonil, azoxistrobina + tebuconazol, tebuconazol, piraclostrobina + epoxiconazol, azoxistrobina + ciproconazol, trifloxistrobina + tebuconazol, acibenzolar-S-metílico, dispostos em quatro concentrações (1.000, 100, 10 e 1 $\mu\text{L L}^{-1}$), sendo três deles registrados para a

cultura da seringueira. Baseando-se nos resultados obtidos através dos caracteres morfológicos, culturais e moleculares, foram identificadas três espécies de *Fusarium* ocorrendo em seringueira no estado de São Paulo, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium incarnatum* e *Fusarium oxysporum*, os quais os dois últimos ainda não foram relatados em seringueira no Brasil. Para o estudo de resistência clonal, os clones IRCA 111 e IAC 502 foram classificados como resistente e suscetível, respectivamente, à espécie *F. oxysporum*. Os materiais clonais IAC 511 e PR 255 foram resistente e suscetível, respectivamente, à espécie *F. incarnatum*. Para a espécie *F. decemcellulare* as informações não foram significativas entre os materiais testados, sendo necessários estudos complementares. As três espécies de *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. incarnatum* e *F. decemcellulare*) foram sensíveis aos fungicidas a base de tebuconazol e trifloxistrobina + tebuconazol, podendo ser alternativas para o manejo da fusariose em seringueira.

Palavras-chave: Heveicultura, fusariose, taxonomia fúngica, resistência clonal, enxertia, controle químico.

ABSTRACT

The rubber tree cultivation represents a great importance for the São Paulo state, especially, in the São Paulo uplands. It represents one of the most planted forest crops in the country, with the main objective, the latex extraction, which serves as a source of raw material for the manufacture of products for the pneumatic, hospital, footwear industries, etc. However, by the cultivation on a perennial basis, the genus *Hevea* suffers from pathogens attack, mainly, fungi. The fusariosis, caused by *Fusarium* spp., is a disease described recently that affects the bark of adult plants, interfering in the latex exploitation by the producers. The symptoms appear as cracks in the stem, followed by necrosis in the bark, which may cause the “tree drying” of the latex of the tree and, consequently, death of the plant. Even knowing about the importance of this disease affecting rubber tree plantations, there are few studies about the biology of the species, its behavior, genetic resistance and other ways of disease control. Therefore, the study aimed to perform studies about pathogenic, morphological and molecular characterization of 51 isolates of *Fusarium* spp., also performing a clonal resistance test and to study different active ingredients in the “*in vitro*” control of the pathogenic isolates. For the morphological characterization of the spores, were evaluated the shape, size and septa number, types of chlamydospores, the formation of phialides and conidiogenesis of the microconidia and mesoconidia. The cultural characterization evaluated the mycelial growth rate, the presence or absence of sporodochia and the pigmentation of the colonies. The molecular studies covered phylogenetic analysis of the isolates DNA analyzes from rDNA ITS region, rDNA IGS region, TEF1- α gene and H3 gene. At the clonal resistance test, different clones of rubber trees were evaluated for resistance to *Fusarium* spp., the clones were RRIM 600 (produced from substrate), RRIM 600 (produced in soil - control), RRIM 937, PB 350, PR 255, IRCA 111, IAC 511, IAC 502 (produced in soil), all from bud grafting. For the “*in vitro*” control test, eight commercial products and one plant activator were tested with the following active ingredients: chlorothalonil, methyl thiophanate, methyl thiophanate + chlorothalonil, azoxystrobin + tebuconazole, tebuconazole, pyraclostrobin + epoxiconazole, azoxystrobin + cyproconazole, trifloxystrobin + tebuconazole, acibenzolar-S-methyl, arranged at four concentrations (1,000, 100, 10 and 1 $\mu\text{L L}^{-1}$), three of them registered for the rubber tree culture. Based on the results obtained through morphological, cultural and molecular

characters, three *Fusarium* species were identified, occurring in rubber trees in the São Paulo state, *Fusarium decemcellulare*, *Fusarium incarnatum* and *Fusarium oxysporum*, which the last two have not yet been reported in rubber trees in Brazil. For the clonal resistance study, the IRCA 111 and IAC 502 clones were classified as resistant and susceptible, respectively, to *F. oxysporum* species. The clonal materials IAC 511 and PR 255 were resistant and susceptible, respectively, to *F. incarnatum* species. For the *F. decemcellulare* species, the information was not significant among the tested materials and additional studies were necessary. The three *Fusarium* species (*F. oxysporum*, *F. incarnatum* and *F. decemcellulare*) were sensitive to fungicides based on tebuconazole and trifloxystrobin + tebuconazole, and could be an alternative to the management of the fusariosis in rubber tree.

Keywords: Rubber tree cultivation, fusariosis, fungi taxonomy, clonal resistance, grafting, chemical control.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO 1 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CULTURAL E MOLECULAR DE ISOLADOS DE <i>Fusarium</i> spp. COLETADOS EM SERINGUEIRA NO ESTADO DE SÃO PAULO.....	25
1.1 INTRODUÇÃO	28
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	29
1.2.1 COLETA E ISOLAMENTO DOS ISOLADOS.....	29
1.2.2 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS MONOSPÓRICOS.....	31
1.2.3 CARACTERIZAÇÃO PATOGÊNICA DOS ISOLADOS.....	31
1.2.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E CULTURAL DOS ISOLADOS	32
1.2.5 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS ISOLADOS	34
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
1.3.1 CARACTERIZAÇÃO PATOGÊNICA, MORFOLÓGICA E CULTURAL DOS ISOLADOS	38
1.3.2 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS ISOLADOS	54
REFERÊNCIAS.....	62
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CLONES DE SERINGUEIRA A <i>Fusarium</i> spp.....	67
2.1 INTRODUÇÃO	68
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	70
2.2.1 AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE CLONES DE SERINGUEIRA A <i>FUSARIUM</i> SPP.....	71
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
REFERÊNCIAS.....	78
CAPÍTULO 3 - CONTROLE QUÍMICO EM DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>Fusarium</i> DE SERINGUEIRA.....	81
3.1 INTRODUÇÃO	83
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	85
3.2.1 CONTROLE “ <i>IN VITRO</i> ” DE DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>FUSARIUM</i> DE SERINGUEIRA	85
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
REFERÊNCIAS.....	101
CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
REFERÊNCIAS.....	109

INTRODUÇÃO GERAL

A seringueira caracteriza-se por ser uma árvore de grande porte e ciclo perene, sendo uma planta nativa da região Amazônica que integra a família Euphorbiaceae (GONÇALVES et al., 2002). Dentre os gêneros que pertencem a essa família, destacam-se *Hevea* (seringueira), *Ricinus* (mamona) e *Manihot* (mandioca). No Brasil, o gênero *Hevea* compreende 11 espécies de seringueiras (***Hevea guianensis*** Aublet, ***Hevea benthamiana*** Müll-Arg., ***Hevea brasiliensis*** (Willd. ex A. Juss.) Müll-Arg., ***Hevea pauciflora*** (Spruce ex Benth.) Müll-Arg., ***Hevea nitida*** Mart. ex. Müll-Arg., ***Hevea spruceana*** (Benth.) Müll-Arg., ***Hevea microphylla*** Ule, ***Hevea paludosa*** Ule, ***Hevea rigidifolia*** (Spruce ex Benth.) Müll-Arg., ***Hevea camporum*** Ducke e ***Hevea camargoana*** Pires) (GONÇALVES; CARDOSO; ORTOLANI, 1990; CORDEIRO; SECCO, 2015), sendo *Hevea brasiliensis*, a espécie mais importante para a produção de látex (GOMES, 1981).

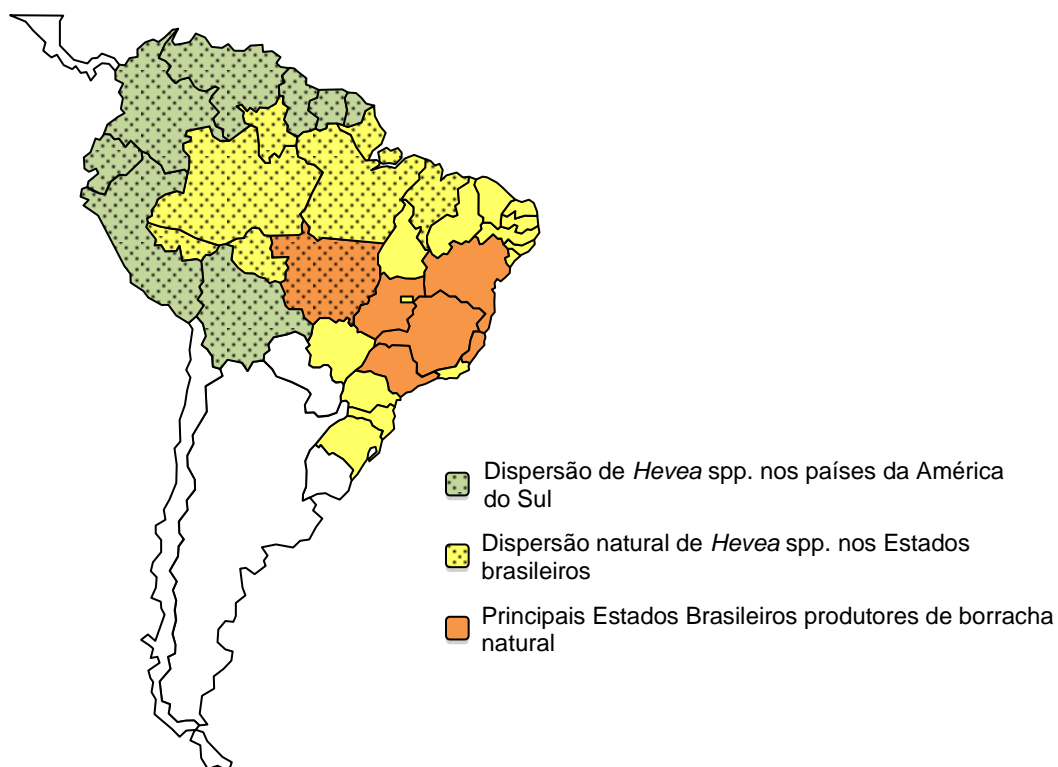
O botânico Adolfo Ducke dedicou anos de estudos a respeito do gênero *Hevea*, que pode ser encontrado amplamente distribuído na bacia Amazônica, compreendendo países como Brasil, Bolívia, Peru, Colômbia, Equador, Venezuela, Guiana Francesa, Suriname e Guiana (DUCKE, 1941; GONÇALVES; CARDOSO; ORTOLANI, 1990). No Brasil, o gênero encontra-se naturalmente disperso nos estados do Amazonas, Pará, Acre, Roraima, Amapá, nordeste do estado do Maranhão, norte do estado do Mato Grosso e Rondônia (DUCKE; BLACK, 1954).

Hevea brasiliensis caracteriza-se como uma planta lactescente, semidecídua, heliófita ou esciófita, típica da floresta amazônica de várzeas inundáveis e, em menor frequência, da floresta de terra firme ocorrendo, de preferência, em solos argilosos e férteis (LORENZI, 2014), utilizada de modo extrativista cuja finalidade é a produção de borracha natural (CAMPELO JÚNIOR, 2000). É uma espécie vegetal adaptável a diferentes condições climáticas, sendo plantada em grandes monocultivos em outras regiões do país, como o Sudeste (SP, ES e MG), Centro-Oeste (MT e GO), Nordeste (BA) (Figura 1) e, em outros países, principalmente os asiáticos (AGRIANUAL, 2015; IBGE, 2017), que representam importantes áreas de escape às principais doenças acometidas pela cultura em sua região de origem.

Em 2015, a área plantada de seringueira no país atingiu, aproximadamente, 154 mil hectares distribuídos nos estados produtores (IBGE, 2017). No mesmo período, a produção mundial de borracha natural foi de 12.277 mil toneladas, sendo

aproximadamente, 11.345 mil toneladas originárias do Sudeste Asiático e nas Américas produziram-se 334 mil toneladas, cerca de 2,72% da produção mundial. A Ásia representa o continente que mais consome o produto (72,8%), seguido pelas Américas (14,1%) e EMEA (Europa, Oriente Médio e África – 13,1%) e os valores da tonelada de borracha natural variaram entre US\$ 1,442 a US\$ 1,560 para o ano base 2015 (IRSG, 2017).

Figura 1 - Ocorrência natural de espécies do gênero *Hevea* na América do Sul e principais estados brasileiros produtores de borracha natural (Fontes: DUCKE, 1941; DUCKE; BLACK, 1954; GONÇALVES; CARDOSO; ORTOLANI, 1990; AGRIANUAL, 2015; IBGE, 2017).



A cultura apresenta múltiplos usos, tendo como principal objetivo, a extração da borracha natural (látex – poliisopreno), através da seiva, que serve como fonte de matéria-prima para confecção de produtos para as indústrias pneumáticas e comércio (pneus de automóveis, caminhões, aviões e revestimentos diversos, luvas cirúrgicas, preservativos, entre outros). Posteriormente, a utilização da madeira pode ser realizada para energia, celulose e com o tratamento químico, pode ser utilizada na indústria de móveis e na fabricação de portas, janelas, formas para concreto armado, vigas, colunas, painéis e madeira compensada. Outros produtos não madeireiros podem ser aproveitados da seringueira como fonte de renda, como óleo de sementes (usado na indústria de tintas e vernizes), mel e torta para alimentação

animal (GONÇALVES, 2002; LORENZI, 2014). A seringueira ainda apresenta um benefício ambiental importante pelo fato de substituir a borracha sintética (derivada do petróleo) pela borracha natural, diminuindo a pressão sobre este recurso mineral (FRANCISCO; BUENO; BAPTISTELLA, 2004).

Para o estabelecimento de um seringal é importante a uniformidade dos indivíduos obtida através de melhoramento genético e obtenção de clones. Materiais clonais apresentam menor variabilidade em relação a diferentes caracteres como espessura da casca, produção, propriedades do látex, nutrição, tolerância às pragas e doenças, facilitando o manejo para o produtor. Os clones de importância comercial para regiões de escape são formados a partir de indivíduos parentais que apresentam, em geral, alta produtividade durante os primeiros anos de sangria aliada à alta taxa de retorno econômico sobre o investimento aplicado em curto espaço de tempo. Estes são alguns clones disponíveis para seringueira no mercado: GT 1, IAC 35, IAC 40, IAC 300, IAC 302, IAC 500, IAC 502, IAC 505, IAC 511, IRCA 111, PB 217, PB 252, PB 350, PC 119, PR 255, PR 261, RRIM 600, RRIM 713, RRIM 937 e RRIM 938. Muitas pesquisas têm alcançado resultados promissores quanto à produtividade e vigor de novos clones de seringueira, contudo, no planalto do estado de São Paulo, o clone RRIM 600 ainda é um dos mais plantados (IAC, 2013).

Estudos abrangendo melhoramento genético para esta espécie florestal encontram-se em constante progresso por pesquisadores brasileiros e de outros países, esforço necessário para garantir a produtividade crescente para as futuras plantações.

Com o avanço do monocultivo, gera uma preocupação quanto ao manejo de pragas e doenças, agentes responsáveis por grandes prejuízos econômicos. O conhecimento do patógeno, sua caracterização e estudos relacionados à resistência de materiais genéticos são fundamentais para a implantação e condução de uma floresta sadia. A seringueira é acometida por várias doenças bióticas e abióticas nas diferentes fases de desenvolvimento da planta, desde o crescimento do porta-enxerto a indivíduos adultos em campo. Clima quente e úmido, característico de zonas tropicais, é favorável à ocorrência da maioria dos patógenos em seringueiras, com destaque para a doença mal das folhas (*Microcyclus ulei*), considerada uma das mais destrutivas à cultura (GASPAROTTO; PEREIRA, 2012). Um dos motivos para o sucesso dos seringais no território paulista deve-se às diferenças climáticas

comparadas às regiões de origem, propiciando o controle evasivo do *M. ulei*. Além do mal das folhas, outras doenças que atacam os seringais:

a) Doenças foliares: antracnose das folhas (*Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum*); requeima e queda anormal das folhas (*Phytophthora* spp.); mancha areolada (*Thanatephorus cucumeris*); crosta negra (*Phyllachora huberi*); mancha de *Cercospora* (*Cercospora heveae*); mancha de *Corynespora* (*Corynespora cassiicola*); oídio (*Oidium heveae*); mancha de *Periconia* (*Periconia manihoticola*); queima-do-fio (*Corticium koleroga*); doença de origem viral (patógeno do gênero *Carlavirus*); mancha de alternaria (*Alternaria* sp.) e mancha de alga (causada pela alga *Cephaleuros* spp.) (FURTADO; TRINDADE, 2005; GASPAROTTO et al., 2012a).

b) Doenças de caule: cancro estriado e cancro do tronco (*Phytophthora* spp.); mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata*); rubelose (*Erythricium salmonicolor*); morte descendente, cancro do enxerto e podridão do caule (doenças associadas, principalmente, ao parasita fraco *Lasiodiplodia theobromae*); antracnose do painel de sangria (*Colletotrichum gloeosporioides*); seca de ponteiros (causada por diversos fatores bióticos e abióticos que acarretam em sintomas muito semelhantes, exemplo, desfolhas sucessivas por doenças foliares, deficiência nutricional, matocompetição, etc.); tumores; *Fusarium* sp.; *Diplodia* sp. e *Cephalosporium* sp. (GASPAROTTO et al., 2012b).

c) Doenças de raízes: podridão vermelha (*Ganoderma philippii*); branca (*Rigidoporus lignosus*) e parda (*Phellinus noxius*) e nematoides (*Meloidogyne* sp., *Pratylenchus brachyurus*, *Rotylenchulus* sp., *Paratrichodorus* sp., Criconematideos) (GASPAROTTO; PEREIRA; FURTADO, 2012; WILCKEN et al., 2015).

A preocupação com o manejo para a resistência às pragas e doenças são de extrema importância devido aos sérios prejuízos e danos econômicos que podem causar aos seringais, como exemplo, a alta incidência de *Microcyclus ulei* nos seringais da região amazônica que inviabilizaram o cultivo nas décadas de 1930 e 1940.

Graças aos avanços nos estudos de melhoramento genético de seringueira, melhoristas têm trabalhado para obtenção de clones mais produtivos e resistentes às principais doenças. Estudos correlacionando a variabilidade do patógeno, a resistência do hospedeiro, a fisiologia das espécies e o melhoramento genético,

viabilizaram a heveicultura nas regiões quentes e úmidas da Amazônia nas últimas décadas, mesmo sob alta incidência de *M. ulei* (GASPAROTTO; PEREIRA, 2012).

Dentre as doenças importantes para a cultura da seringueira, destacam-se àquelas que incidem no caule, como *Fusarium* spp., que debilitam a planta e reduzem o potencial da produção laticífera. Em condições ideais de infecção, podem causar grandes prejuízos afetando tanto a produção quanto a qualidade da madeira. Com relação ao gênero *Fusarium* spp., este é considerado de grande importância acadêmica e econômica para a agricultura por englobar muitas espécies, raças e metabólitos relevantes na patogenia de plantas (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

No âmbito agrícola, grandes perdas estão associadas pela ocorrência de *Fusarium* spp. nas lavouras relatadas para tomateiro, feijoeiro, milho, soja, entre outros. A doença mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*), descoberta inicialmente no Panamá, no século passado, é exemplo de uma doença endêmica que se espalhou rapidamente pela maioria das regiões produtoras no mundo, dizimando os pés de bananeiras da variedade 'Gros Michel'. No Brasil, a variedade banana maçã é a mais suscetível a essa doença (PLOETZ, 2015; LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Na literatura, *Fusarium* spp. foi inserido, primeiramente, por Link em 1809, sendo identificado pela presença de macroconídios em formato de canoa ou banana, caractere clássico para o diagnóstico deste gênero. Desde então, a taxonomia de *Fusarium* tem passado por diversas mudanças importantes para a correta identificação das inúmeras espécies existentes registradas para cada hospedeiro dentro do gênero. Os primeiros pesquisadores a estabelecerem um sistema taxonômico foram Wollenweber e Reinking, em 1935, que utilizaram a morfologia dos macroconídios e a pigmentação das colônias como critérios para a distinção das espécies, até então, divididas em 16 seções, 65 espécies e 77 variedades e formas subespecíficas (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Outros grandes estudiosos contribuíram para aprimorar o sistema taxonômico moderno de *Fusarium*. Raillo (1930-1950), salientou o cultivo de um único esporo para a identificação e baseou-se no formato do macroconídio e presença de microconídio e clamidósporos; Gordon (1930-1960) acrescentou o conceito de teleomorfismo; Snyder e Hansen, nas décadas de 40 e 50, reduziram para nove o número de espécies e enfatizaram a importância da cultura monospórica para uma identificação confiável; Messiaen e Cassini (1950-1960) basearam-se em variedades

botânicas em vez de cultivares; Bilai (1950-1970) estudou os caracteres fisiológicos na identificação ligados à temperatura, umidade e meio de cultura; Booth (1960-1970) introduziu a morfologia das células conidiogênicas; Matuo (1972), baseando-se na classificação de Snyder e Hansen, acrescentou uma espécie à taxonomia; Gerlach e Nirenberg (1982) reconheceram um grande número de espécies; Nelson, Toussoun e Marasas (1983) publicaram um guia para identificação de *Fusarium* com fotos nítidas para cada espécie, baseando-se na classificação proposta por Snyder e Hansen; Joffe (1986) acrescentou quesitos micotoxicológicos para a identificação (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

De acordo com a literatura mais recente dedicada a taxonomia de espécies de *Fusarium* de Leslie e Summerell (2006), existem mais de 80 espécies patogênicas às plantas, contudo, com o avanço das técnicas moleculares, este número poderá aumentar drasticamente nos próximos anos.

Para realizar a identificação das espécies deste gênero, é necessário aferir os aspectos morfológicos e confirmar o resultado através do uso de técnicas moleculares. Apesar dos caracteres morfológicos serem ferramentas úteis na classificação inicial de fungos, são limitados em números, podendo estar sujeitos à seleção, e a expressão é sensível às mudanças ambientais. Portanto, devido às diferentes causas que podem originar a especiação de *Fusarium*, os conceitos biológicos e filogenéticos têm se tornado importantes para conferir veracidade à taxonomia do gênero (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

A caracterização morfológica para espécies do gênero *Fusarium* deve compreender caracteres indispensáveis para uma correta identificação em nível de espécie, tais como: formato das células apicais e basais, tamanho e número de septos dos macroconídios e microconídios ou mesoconídios; células conidiogênicas (fialides); aparência dos clamidósporos, presença ou ausência de esporodóquio. Outras características secundárias podem ser utilizadas para diferenciar as espécies, são os caracteres culturais, como: coloração e taxa de crescimento das colônias; e fisiológicos, como: produção de micotoxinas e metabólitos secundários (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Referindo-se aos caracteres biológicos, podem-se citar alguns conceitos de fertilidade como espécies heterotálicas, homotálicas ou pseudohomotálicas, testes VCGs (grupos de compatibilidade vegetativa) e mating type que estuda a reprodução sexual dos fungos. Quanto aos caracteres filogenéticos, estes estão

associados às técnicas moleculares que são métodos mais sensíveis e específicos na caracterização do patógeno, como exemplo, o PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e o teste ELISA (Enzime-linked immunosorbent assay) que são algumas técnicas utilizadas para a diagnose de diversos vírus, bactérias e fungos patogênicos a plantas (LESLIE; SUMMERELL, 2006; REZENDE et al., 2011).

Dentro do patossistema *Fusarium*-seringueira, foram encontradas diferentes espécies de *Fusarium* causando danos em plantios de seringueira nos países produtores: *Fusarium oxysporum* (China e Malásia – *H. brasiliensis*); *Fusarium solani* (China e Malásia – *H. brasiliensis*; Brasil – *Hevea* spp.); *Fusarium semitectum* – (sin.: *Fusarium incarnatum*) (Malásia – *H. brasiliensis*); *Fusarium tumidum* (Malásia – *H. brasiliensis*); *Fusarium javanicum* (China, Índia e Sri Lanka – *H. brasiliensis*); *Fusarium decemcellulare* (Brasil e Congo – *H. brasiliensis*); *Fusarium moniliforme* (Brasil – *Hevea* spp.); *Fusarium verticillioides* (Brasil – *Hevea* spp.); *Fusarium venfricosum* (China – *Hevea* spp.) (USDA, 2017; HUANG et al., 2016; JIANG et al., 2015; LI et al., 2014; DÓRIA, 2012; BETELONI et al., 2009; FURTADO et al. 2001).

A fusariose em seringueira acarreta danos no painel de sangria da planta, interferindo na produção de látex. Na China, em plantios de seringueira na Província de Yunnan, os danos causados por *Fusarium oxysporum* começaram por secreções marrons no caule de 5 a 6 cm acima do chão. Ocasionalmente, as secreções poderiam escurecer não havendo produção de látex na região. Após a secreção ser removida, a doença na casca estava putrescente mas ao redor da lesão estava sadio. Em situações mais severas, parte das folhas da copa ficaram amareladas e a raiz, próxima ao caule doente, estava seca e avermelhada (LI et al., 2014).

Em Jino, na China, outros sintomas da podridão do colo, causada pela espécie *Fusarium venfricosum* foram observados. As árvores apresentavam necroses nas cascas infectadas cobertas por oídio e, após realizar a remoção da casca, a parte do xilema afetado aparentava um gel branco e sem odor. Em situações mais extremas, a casca doente resultava em morte das plantas (JIANG et al., 2015).

Em seringais paulistas, os sintomas de *Fusarium* spp. podem ser observados nas cascas como trincas, estendendo-se do porta-enxerto em direção ao painel, provocando o secamento na região da área lesionada. Esta lesão pode crescer, com o passar do tempo, desprendendo a casca, o que torna o processo de sangria inviável (DÓRIA, 2012).

Os sintomas observados diferem entre as espécies, porém as lesões no caule, como as trincas, são características desta doença, seguidas por necroses. Em situações mais severas de infecção, as lesões podem originar o secamento e a morte da planta toda. O controle da fusariose pode ser realizado através de uma mistura com produto fungicida aplicada direto no painel infectado. Esta mistura consiste em meio litro de tinta látex branca, para proteger o tronco dos raios de sol e fixar o fungicida, meio litro de água e 5 mL de fungicida a base de ingrediente ativo tebuconazol. Para aplicar é preciso retirar a casca apodrecida e aplicar a pasta sobre a área lesionada. Para evitar a disseminação do patógeno, é essencial que os seringueiros desinfestem a faca de sangria de uma árvore para outra, com hipoclorito de sódio (GLOBO RURAL ONLINE, 2013).

Devido a ocorrência recente da doença fusariose e às frequentes perdas associadas à produtividade do látex, literaturas sobre o patossistema *Fusarium*-seringueira são pouco encontradas. Diante disso, tornam-se importantes estudos de identificação dos agentes patogênicos, interações destes com os materiais clonais plantados comercialmente e formas de controle eficientes a fim de auxiliar os produtores no manejo da heveicultura.

Com o propósito de conhecer as características dos fungos e suas interações com o hospedeiro, são necessários estudos que permitem uma melhor identificação do patógeno, diferenciando-o de outras espécies. Portanto, o primeiro estudo deste trabalho visou identificar isolados de *Fusarium* spp. coletados em seringais no estado de São Paulo, que apresentavam sintomas da doença, a fim de obter uma melhor identificação a nível de espécie.

Além disso, testes realizados para avaliar a resistência de uma espécie vegetal ou material clonal a um patógeno são importantes para o embasamento da seleção de genótipos resistentes. Desse modo, após o conhecimento das espécies causadoras de fusariose em *H. brasiliensis*, prosseguiu-se o segundo estudo com a finalidade de verificar a resistência de materiais clonais, utilizados comercialmente, expostos à doença fusariose, permitindo assim, encontrar clones resistentes, sendo uma informação relevante para o programa de melhoramento da cultura.

Como premissa de auxiliar os produtores no controle da fusariose no painel de sangria da seringueira, o terceiro estudo objetivou testar ingredientes ativos, sendo alguns registrados para a cultura para diferentes doenças, buscando encontrar

aquele que consiga controlar as diferentes espécies de *Fusarium*, como um todo, de modo eficiente.

Portanto, os objetivos do trabalho foram:

a) Realizar a caracterização morfológica e cultural dos agentes causadores da seca patológica do painel;

b) Realizar a caracterização molecular dos isolados patogênicos;

c) Verificar a reação de genótipos de seringueira a diferentes espécies de *Fusarium*;

d) Verificar a sensibilidade das espécies de *Fusarium* do painel da seringueira a alguns princípios ativos.

Os itens a e b, estão presentes no Capítulo I, o item c, está presente no Capítulo II e o item d, no Capítulo III.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa visou identificar agentes patogênicos responsáveis por causar a fusariose em seringueira no maior estado produtor dessa cultura, bem como, realizar estudos introdutórios sobre resistência clonal de materiais de seringueira utilizados comercialmente à fusariose e analisar diferentes princípios ativos através do controle químico “*in vitro*” dos agentes causais.

De acordo com os caracteres morfológicos, culturais, moleculares e patogenicidade foram identificadas três espécies de *Fusarium* ocorrendo em seringueira no estado de São Paulo: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum* e *Fusarium decemcellulare*, sendo que as espécies *F. oxysporum* e *F. incarnatum* ainda não foram relatadas em seringais no Brasil.

A fusariose é uma doença que ocorre em campo, sendo possível encontra-la em plantas adultas com mais de dez anos de sangria. Estudos voltados para a resistência de materiais genéticos tornam-se necessários a fim de proporcionar soluções para o estabelecimento da cultura. Nosso trabalho buscou testar alguns materiais clonais que estão disponíveis no mercado para os heveicultores quanto a resistência a três espécies de *Fusarium*, contudo, o teste de resistência clonal foi realizado em plantas jovens de seringueira (mudas com um ou dois lançamentos foliares). Diante dos resultados encontrados, destacam-se a resistência dos clones IRCA 111 e IAC 511 às espécies *F. oxysporum* e *F. incarnatum*, respectivamente. Com relação à espécie *F. decemcellulare*, IRCA 111 apresentou os menores valores de lesões, porém, não foram observadas diferenças estatísticas entre os clones para esse patógeno. Estes resultados incipientes são interessantes e necessitam ser mais detalhados, abrangendo outros materiais clonais para uma conclusão mais completa e precisa.

Uma das estratégias de manejo para o controle de pragas e doenças em campo é a utilização de produtos fitossanitários. Nosso trabalho visou testar diferentes princípios ativos capazes de controlar “*in vitro*” o crescimento micelial das três espécies de *Fusarium* encontradas em seringueira, trazendo algumas possibilidades para testes posteriores em campo. Os ingredientes ativos que proporcionaram um controle mais eficaz dos três agentes causais foram tebuconazol e trifloxistrobina + tebuconazol.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP – Informa Economics, 2015. 504 p.
- BETELONI, F.G. et al. *Fusarium moniliforme*, novo patógeno no painel da seringueira, no estado de São Paulo. In: XXXII CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 2009, São Pedro. **Anais do XXXII Congresso Paulista de Fitopatologia**. São Pedro: Summa Phytopathologica, 2009. v. 35, p. 35 - 35.
- CAMPELO JÚNIOR, J.H. Estimativa da transpiração em seringueira. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 35-42, 2000.
- CORDEIRO, I.; SECCO, R. **Hevea in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22703>>. Acesso em: 14 dez. 2015.
- DÓRIA, K.M.A.B.V.S. **Caracterização morfológica, cultural, molecular e enzimática de isolados de *Fusarium spp.* de seringueira**. 2012. 115f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012.
- DUCKE, A. **Revisão do gênero *Hevea*, principalmente as espécies brasileiras**. Manaus, Departamento de Publicações do Estado do Amazonas, 1941. 42p. Cedido pelo: Governo do Estado do Amazonas. Secretaria de Estado de Cultura. Gerência de Acervos Digitais.
- DUCKE, A.; BLACK, G.A. Nota sobre a fitogeografia da Amazônia brasileira. Belém: Instituto Agrônômico do Norte. **Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Norte**, Belém, v. 29, 62 p., 1954.
- FRANCISCO, V.L.F.S.; BUENO, C.R.F.; BAPTISTELLA, C.S.L. A Cultura da Seringueira no Estado de São Paulo. São Paulo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 34, n. 9, 2004.
- FURTADO, E.L.; TRINDADE, D.R. Doenças da Seringueira. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agrônômica Ceres, 2005, v. 2, p. 559-567.
- FURTADO, E.L. et al. *Fusarium solani*, novo patógeno causando mofo cinzento em painel de seringueira, no Estado de São Paulo. In: XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2001, São Pedro. **Anais do XXXIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. São Pedro: Fitopatologia Brasileira, 2001, v. 26, p. 439-439.
- GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. **Doenças da Seringueira no Brasil**. 2. ed. Brasília-DF: Embrapa, 2012, 255p.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; FURTADO, E.L. Doenças das raízes. In: GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. **Doenças da Seringueira no Brasil**. 2. ed. Brasília-DF: Embrapa, 2012, p. 217-226.

GASPAROTTO, L. et al. Doenças das folhas. In: GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. **Doenças da Seringueira no Brasil**. 2. ed. Brasília-DF: Embrapa, 2012a, p. 35-176.

GASPAROTTO, L. et al. Doenças do caule. In: GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. **Doenças da Seringueira no Brasil**. 2. ed. Brasília-DF: Embrapa, 2012b, p. 177-215.

GLOBO RURAL ONLINE. **Pesquisadores descobrem fórmula que combate fungo na seringueira**. 2013. Disponível em: <<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2013/06/pesquisadores-apontam-formula-que-combate-fungo-na-seringueira.html>>. Acesso em: 10 abr. 2016.

GOMES, J.J. **Estudo anatômico do xilema secundário das espécies de *Hevea* da Amazônia brasileira**. 1981. 205p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1981.

GONÇALVES, P.S. **Sub-produtos complementares da renda de um seringal**. 2002. Artigos APABOR Associação Paulista de Produtores e Beneficiadores de Borracha (Apabor). Disponível em: <<http://www.apabor.org.br>>. Acesso em: 14 dez. 2015.

GONÇALVES, P.S.; CARDOSO, M.; ORTOLANI, A.A. Origem, variabilidade e domesticação da *Hevea*: uma revisão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 135-156, 1990.

GONÇALVES, P.S. et al. Desempenho de clones de seringueira da série IAC 300 na região do planalto de São Paulo, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 131-138, fev. 2002.

HUANG, G.X. et al. First report of rubber tree gummosis disease caused by *Fusarium solani* in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 100, n. 8, p. 1788-1788, ago. 2016.

IAC. Instituto Agronômico de Campinas. **Centro de Seringueira e Sistemas Agroflorestais**. 2013. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areasdepesquisa/seringueira/>>. Acesso em: 14 dez. 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**. 2017. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2015/default_xls.shtm>. Acesso em: 10 mar. 2017.

IRSG. INTERNATIONAL RUBBER STUDY GROUP. **Quarterly Statistics**. 2017. Disponível em:

http://www.rubberstudy.com/documents/WebSiteData_Feb2017New.pdf. Acesso em: 10 mar. 2017.

JIANG, G. et al. Isolation and identification of fungus causing collar rot disease of rubber tree. **Agricultural Science & Technology**, [s.l.], v. 16, n. 3, p. 529-529, 2015.

LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The *Fusarium* Laboratory Manual**. EUA: Blackwell Willey, 2006. 388 p.

LI, B.X. et al. First report of rubber tree stem rot caused by *Fusarium oxysporum* in China. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 98, n. 7, p. 1008-1008, 2014.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 6 ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014, v. 1, 384 p.

PLOETZ, R.C. *Fusarium* Wilt of Banana. **Phytopathology Review**, [s.l.], v. 105, n. 12, p. 1512-1521, 2015.

REZENDE, J.A.M. et al. Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In. AMORIM, L., REZENDE, J.A.M., BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011, v. 1, p. 37-58.

USDA. United States Department of Agriculture. **Fungal Database**. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungal/databases/fungushost/fungushost.cfm>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

WILCKEN, S.R.S. et al. Nematoides fitoparasitas em seringais no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 41, n. 1, p. 54-57, 2015.