

ANGELO RAFAEL GRECO

PREDISPOSIÇÃO DE *Pinus taeda* L. E *Eucalyptus grandis* Smith A
INFECÇÕES POR *Cylindrocladium clavatum* Hodges &
May RELACIONADAS COM MALFORMAÇÃO DE RAIZES

Tese Apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Engenharia Florestal
do Setor de Ciências Agrárias da
Universidade Federal do Paraná,
como requisito parcial à obtenção
do grau de "Doutor em Ciências
Florestais".


CURITIBA
1991

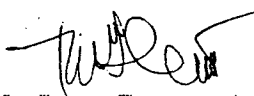
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

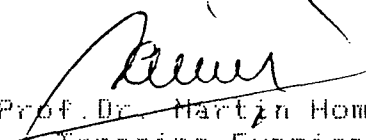
P A R E C E R


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal para realizar a arguição da Tese de Doutorado apresentada pelo candidato ANGELO RAFAEL GRECO, sob o título "PREDISPOSIÇÃO DE MUDAS DE *Pinus taeda* L. E *Eucalyptus grandis* Smith A INFECCÕES CAUSADAS POR *Cylindrocladium clavatum* Hodges & May RELACIONADAS COM MALFORMAÇÃO DE RAIZES." para obtenção do grau de Doutor em Ciências Florestais Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. Área de concentração: SILVICULTURA, após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, são de parecer pela "APROVAÇÃO" da Tese completando assim os requisitos necessários para receber o grau e o Diploma de DOUTOR EM CIÊNCIAS FLORESTAIS.

Curitiba, 12 de novembro 1991


Prof. Dr. Charles Frederick Robbs
Primeiro Examinador


Prof. Dr. Tasso Leo Krugner
Segundo Examinador


Prof. Dr. Martin Homechin
Terceiro Examinador


Prof. Dr. Ervandil Correa Costa
Quarto Examinador


Prof. Dr. Jose Henrique Pedrosa-Macedo
Presidente da Banca Examinadora



BIOGRAFIA

ANGELO RAFAEL GRECO, filho de Genaro Francisco Greco e Carnevale Maria Tereza Greco, nasceu em 13 de setembro de 1946, na cidade do Rio de Janeiro. Passou sua infância e juventude em Santa Tereza, na cidade do Rio de Janeiro, estudando o Pré-Primário em Colégio de freiras, e o Primário em Escola Pública. Entre 1961 e 1967 estudou e concluiu o Ginásio e o Científico no Colégio Pedro II - Externato. Em 1968, se submeteu e foi aprovado no exame de seleção para escriturário no Banco Nacional S.A., onde trabalhou um ano. Interessado em ciências do meio ambiente, particularmente na área florestal, se submeteu ao exame vestibular em 1969, sendo aprovado e cursou a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), formando-se Engenheiro Florestal em 1972. Em 1975, foi selecionado pela LASPAU para cursar Pós-Graduação nos Estados Unidos da América. Depois de estudar cinco meses de inglês intensivo na Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, cursou a University of Washington, Seattle, Washington, onde obteve o grau de *Master Science* em Patologia e Microbiologia Florestal em

1978, defendendo a tese **EFFECT OF ROOT DISEASES AND SITE PREPARATION ON THE GROWTH AND NUTRIENT STATUS OF BARKROOT AND CONTAINER GROWN DOUGLAS-FIR SEEDLINGS.** Em 1973, na UFRRJ, iniciou suas atividades de professor lecionando Silvicultura e Proteção Florestal, na função de Auxiliar de Ensino, e hoje exerce a função de Professor Adjunto, lotado no Departamento de Silvicultura do Instituto de Floresta. Possui trabalhos publicados no país e exterior na área de Patologia Florestal. Em 1985, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Silvicultura, em nível de Doutorado, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

A memória de meus pais, GENARO e
TEREZA; a minha esposa MERCEDES
e nossos filhos PATRICK e
PATRICIA pelo amor recebido.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores José Henrique Pedrosa-Macedo, orientador, Dr. Mario Takao Inoue e Dr. Ronaldo Viana Soares, co-orientadores, pelas facilidades, sugestões, revisão do texto e conselhos para a realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Charles Frederick Robbs, co-orientador, pesquisador da EMBRAPA/CNPDA, pelo acompanhamento e críticas à pesquisa, pelas sugestões na redação da tese, revisão do texto e pelas avaliações realizadas no isolamento do fungo.

A Dra. Maria Aiko Watanabe, pesquisadora da EMBRAPA/CNPDA, pelas sugestões e orientação nas análises estatísticas do experimento.

A KLABIN do Paraná Agro Florestal S.A., na pessoa do seu gerente florestal, Eng^o Raul Mário Speltz, e à RIGESA, S.A., na pessoa do seu gerente florestal Eng^o Ftal. Etsuro Murakami, pelos recursos físicos e humanos oferecidos para

coleta de material de campo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram com este estudo.

A memória do amigo Odilon Nolf Filho.

Obrigado Senhor.

SUMARIO

	Página
<u>LISTA DE TABELAS</u>	ix
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	xi
<u>RESUMO</u>	xii
1 <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 <u>OBJETIVOS</u>	4
3 <u>REVISÃO DE LITERATURA</u>	6
3.1 IMPORTANCIA E DISTRIBUIÇÃO DO GÊNERO <i>Cylindrocladium</i> NO BRASIL	6
3.2 PATOGENICIDADE EM <i>Cylindrocladium</i> spp EM FLORESTAIS	7
3.3 NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA DE <i>Cylindrocladium</i> <i>clavatum</i>	8

4	<u>MATERIAL E METODOS</u>	13
4.1	LOCALIZAÇÃO DAS AMOSTRAGENS	13
4.2	CLIMA E VEGETAÇÃO DAS AREAS LEVANTADAS	13
4.2.1	CLIMA	13
4.2.2	VEGETAÇÃO	14
4.3	OBSERVAÇÕES EM CAMPO COM DECLÍNIO E/OU MORTALIDADE DE <i>Pinus</i> spp E <i>Eucalyptus</i> spp, ASSOCIADOS A RAIZES MALFORMADAS.....	14
4.4	COLETA DE AMOSTRAS DE SOLO E ISOLAMENTOS DE <i>Cylindrocladium</i> spp.	16
4.5	IDENTIFICAÇÕES PRELIMINARES E SELEÇÃO DOS ISOLADOS A SEREM UTILIZADOS NO EXPERIMENTO	21
4.6	TESTES DE PATOGENICIDADE EM MUDAS COM RAIZES NORMAIS E COM MALFORMAÇÕES INDUZÍ- DAS	23
5	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	29
6	<u>CONCLUSÕES</u>	42
	<u>APENDICE</u>	44
	<u>SUMMARY</u>	47
	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	49

LISTA DE TABELAS

	Página
01. RELAÇÃO DE AMOSTRAS DE SOLO RETIRADAS DE AREAS DAS FAZENDAS MONTE ALEGRE-PR E TRES BARRAS-SC, PARA ISOLAMENTO DE <i>Cylindrocladium</i> spp., JUNHO DE 1987	18
02. PORCENTAGEM DE ISOLADOS DE <i>Cylindrocladium</i> spp. OBTIDOS NAS AMOSTRAS RETIRADAS DO RIZOPLANO E RIZOSFERA DE CULTIVOS DE <i>Pinus</i> e <i>Eucalyptus</i> E DE MATA PELO METODO DE ISCA COM FOLHAS DE MAMONA, CONDUZIDOS NOS LABO- RATORIOS DO DS/UFRRJ E CNPDA/EMBRAPA, JULHO DE 1987	32
03. PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE <i>C. clavatum</i> A PLANTULAS DE <i>P. taeda</i> E <i>E. grandis</i> , EXPRESSA EM PORCENTAGEM DE PLANTAS VIVAS COMPARADAS A TESTEMUNHA, AOS 30 DIAS APÓS SEMEIO. DS, RIO DE JANEIRO, AGOSTO DE 1987	34
04. PROPORÇÃO DE MUDAS DE <i>P. taeda</i> CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR <i>C. clavatum</i> , ISOLADO 02, COM BRONZEAMENTO E SECA DE ACICULAS. EXPERIMENTO 1. UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO 1988	35

05.	PROPORÇÃO DE MUDAS DE <i>P. taeda</i> CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR <i>C. clavatum</i> , ISOLADO 07, COM BRONZEAMENTO E SECA DE ACICULAS. EXPERIMENTO 2, UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO DE 1988	35
06.	PROPORÇÃO DE MUDAS DE <i>E. grandis</i> CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR <i>C. clavatum</i> , ISOLADO 02, COM AMARELAMENTO, MURCHA E SECA DE FOLHAS. EXPERIMENTO 3, UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO DE 1988	36
07.	PROPORÇÃO DE MUDAS DE <i>E. grandis</i> RESULTANTES DE NECROSES DE RAIZES, CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR <i>C. clavatum</i> , ISOLADO 07, COM AMARELAMENTO, MURCHA E SECA DE FOLHAS. EXPERIMENTO 4, UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO DE 1988	36
08.	TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DE MUDAS DE <i>E. grandis</i> e <i>P. taeda</i> MORTAS NOS TRATAMENTOS. DADOS MOSTRADOS SÃO MÉDIAS ARITMÉTICAS DE TRES REPETIÇÕES DOS EXPERIMENTOS 1, 2, 3 e 4 COM <i>C. clavatum</i> $\frac{1}{2}$	37
09.	ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 4 ..	45
10.	ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 5 ..	45
11.	ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 6 ..	46
12.	ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 7 ..	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
01. RAIZES DE PLANTA DE <i>E. grandis</i> ENOVELADAS, E COM PODRIDOES DESENVOLVIDA NA FAZENDA MONTE ALEGRE, TELEMACO BORBA-PR, 1985	15
02. SETA INDICANDO REBOLEIRAS DE MUDAS DE <i>E. grandis</i> , COM DECLINIO E PODRIDAO DE RAIZES CAUSADA POR <i>C. clavatum</i> , FAZENDA MONTE ALEGRE, TELEMACO BORBA, PR, 1985	30

RESUMO

A mudança para o semeio direto em recipientes contendo substratos isentos de patógenos habituais do solo, não resolveu totalmente o problema do declínio e morte nos plantios de *Pinus* e *Eucalyptus*, associado à podridão de raízes. Esses problemas foram sempre atribuídos ao ataque dos fungos, *Cylindrocladium* spp., patógenos com amplas faixas de hospedeiros e distribuição no Brasil, em áreas de mata e cerrado. As ocorrências de *Cylindrocladium* spp. são citadas como resultantes da predisposição de alguns hospedeiros com malformação de raízes, oriundas do viveiro ou por plantio inadequado. Amostras de solo de 1000 gramas foram coletadas em campo, de árvores de *Pinus* e *Eucalyptus* com mais de dois anos de plantio, afetadas ou não por declínio e podridão de raízes. Das observações da interação planta doente vs malformação de raízes, foram realizados diversos isolamentos, inclusive em solos virgens ou em pousio. Destes isolamentos, constatou-se a ampla

distribuição do fungo *C. clavatum*, em reflorestamentos, com *Pinus* e *Eucalyptus* nos Estados do Paraná e Santa Catarina. Os experimentos, conduzidos com delineamento estatístico em casa de vegetação com mudas de *Pinus taeda* e *Eucalyptus grandis*, exibindo ou não raízes malformadas e inoculadas com estirpes patogênicas de *C. clavatum* comprovaram a elevada predisposição dessas mudas a infecções e morte pelo patógeno.

No controle das infecções recomenda-se práticas de manejo mais adequadas à formação das mudas no viveiro e principalmente nos plantios definitivos. Esses plantios devem ser mais correlacionados com o preparo do solo e a idade do material propagativo, evitando com isso os traumas e envelhecimento das raízes de *Pinus* e *Eucalyptus*.

1 INTRODUÇÃO

A atividade de reflorestamento pode ser considerada a que mais impulsionou o crescimento do setor florestal no Brasil. Estimulados por uma política de incentivos fiscais, prevista no Código Florestal, só começou a ser implantada a partir de legislação específica em 1966 reformulada, sucessivamente, em 1970 e 1974, com o aprimoramento de tais atividades. Em decorrência do fato, o crescimento da área de reflorestamento incentivada no país, se situou na faixa de 100 a 250 mil hectares anuais, no período de 1968 a 1973, e de 450 mil hectares de 1974 a 1983, já com uma área de 4 milhões de hectares em 1982 (REIS, 1986).

Atualmente, os reflorestamentos abrangem áreas de mais de 6 milhões de hectares constituem uma das bases para a indústria florestal do país, haja visto que do volume total de madeira consumido industrialmente, cerca de 39% vem de florestas implantadas (SIQUEIRA, 1990).

A maioria das plantações de *Pinus* spp. estabelecidas no Brasil mostraram um sistema de povoamentos densos, com população variando entre 1.600 a 2.500 plantas por hectare. Atualmente, já existe um consenso geral de que os futuros plantios sejam estabelecidos em espaçamentos mais amplos, como por exemplo o de 3 x 3 metros e até 4 x 4 metros, reduzindo assim o número de árvores para 1.100 ou até 625 por hectare. Esses maiores espaçamentos, válidos também para o plantio de *Eucalyptus*, se justificam tendo em vista a baixa remuneração para a matéria prima removida em desbastes realizados em povoamentos excessivamente densos. JANES *et alii* (1970) apontaram, entre outras razões, para o estabelecimento de povoamentos (florestas de produção) com elevada densidade inicial de plantas por área, o fato de se tornar suportável a níveis aceitáveis a mortalidade inicial. A reposição de mudas até um ano de idade, que se apresentam raquíticas ou mortas, é uma prática universalmente recomendável. Adicionalmente, o replantio é uma exigência prevista nas normas que regem os aspectos técnicos do reflorestamento. Além de se conseguir estabelecer definitivamente o número de plantas previsto no projeto técnico, se justifica muitas vezes o replantio como uma necessidade técnica para evitar a presença de clareiras no povoamento (AHRENS, 1987). Obviamente, com mortandades após um ano de plantio, como as que tem sido verificadas em alguns povoamentos, originando grandes clareiras, o replantio se torna quase impossível.

O afogamento do coleto do *Eucalyptus*, particularmente *E. grandis*, *E. urophylla* e *E. cloeziana*, pode infligir mortalidades acima de 50% (FERREIRA, 1989). Esta enfermidade se acha relacionada com o plantio de mudas em estágio adiantado de desenvolvimento e que possuem um sistema radicular envelhado tornando-se assim menos aptas a reagirem à colonização pelos patógenos oportunistas que fazem de solos seus nichos de sobrevivência. FERREIRA (1989), ainda se referindo ao controle do *Cylindrocladium* em *Pinus* escreveu: "Até o momento não há recomendações de controle prescrito para esta doença. Pesquisa sobre a etiologia da enfermidade são requeridas, para que possamos entendê-la e pensar nas tentativas para o seu controle." Essa afirmativa pode ser considerada válida para os eucaliptos, onde a doença tem sido mais freqüente e danosa.

O estudo das interações entre *Pinus taeda* e *Eucalyptus grandis* apresentando arquitetura inadequada de raízes e predisposição ao patógeno *Cylindrocladium clavatum*, fungo prevalente em muitos solos brasileiros, foi o principal objetivo dessa pesquisa, procurando, através da experimentação, comprovar a hipótese aventada por HOMECHIN & KRUGNER (1980) em *Pinus* spp. e ROBBS *et alii* (1982) trazendo soluções, a curto prazo, para minimizar os danos que ocorrem a médio e longo prazos no campo, e que resultam em fator negativo na relação custo/benefício.

2 OBJETIVOS

Os objetivos desta pesquisa podem ser assim resumidos:

a) verificar através de uma prospeção levada a efeito em áreas pertencentes a Klabin do Paraná Agro-Florestal S/A e Rigesa Papel e Celulose, a presença de árvores de *Pinus* e *Eucalyptus* com sintomas de declínio ou mortas em idades variando entre dois e cinco anos, e portadoras de malformações do sistema radicular;

b) identificar através de isolamentos de solos das áreas de influência da cultura, associados ou não aos povoamentos monitorados, a presença de fungos, particularmente *Cylindrocladium* spp., atualmente considerados de elevado potencial patogênico sob certas condições;

c) selecionar entre os isolados obtidos de *Cylindrocladium* spp., os mais virulentos destinados aos experimentos programados;

d) conduzir experimentos em casa de vegetação, procurando verificar uma possível correlação estatística entre mudas de *P. taeda* e *E. grandis* com raízes malformadas e maior predisposição à infecção causada pelo patógeno selecionado, incitando declínio e morte, numa simulação a curto prazo de condições de campo; e

e) sugerir, caso seja confirmada a hipótese aventada, uma estratégia para o controle, compatível com o sistema de manejo adotado pelas empresas florestais, a fim de minimizar as perdas que tem sido verificadas.

3 REVISAO DE LITERATURA

3.1 IMPORTANCIA E DISTRIBUIÇÃO DO GÊNERO *Cylindrocladium* NO BRASIL

O gênero *Cylindrocladium* era relativamente desconhecido antes da publicação de BOEDJIN & REITSMA (1950) onde foram descritas espécies existentes até 1950, incluindo não só as plantas hospedeiras mas também distribuição geográfica. Para a descrição das espécies, ambos se basearam em três caracteres morfológicos: a) morfologia da clava ou vesícula, que ocorre na extremidade de uma hifa estéril; b) ramificações do conidióforo; e c) tamanho, septação e forma dos conídios. Em 1972, SOBERS & ALFIERI reconheceram 18 espécies e duas variedades para o gênero *Cylindrocladium*. Membros do gênero *Cylindrocladium* afetam um elevado número diversificado de hospedeiros, incluindo-se plantas ornamentais, florestais, frutíferas e outras espécies de grande valor econômico. Foi CHAVES BATISTA (1951) quem primeiro identificou no Brasil um representante do gênero, denominando-o de *Cylindrocladium*

scoparium. Em 1961, CRUZ & FIGUEIREDO já acreditavam na importância do fungo *Cylindrocladium* sobre a cultura do Eucalipto. ALFENAS (1986) e FERREIRA (1989) elaboraram chaves taxonômicas para a classificação de espécies de *Cylindrocladium* registradas no Brasil. A distribuição de *C. clavatum* é bastante ampla, e segundo ALMEIDA & BOLKAN (1981), tem sido encontrado nos Estados do Amazonas, Minas Gerais, Goiás, Bahia, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Distrito Federal.

3.2 PATOGENICIDADE DE *Cylindrocladium* spp. EM ESPÉCIES FLORESTAIS

HODGES & MAY (1972) e HODGES *et alii* (1973) descreveram uma doença inédita causada por uma nova espécie de *Cylindrocladium*, classificada como *C. clavatum* tendo, como hospedeiros: *Araucaria angustifolia*, *Eucalyptus saligna*, *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, *Pinus elliottii* var. *elliottii*, *Pinus caribaea* var. *caribaea*, *Pinus oocarpa*, *Pinus patula* e *Pinus insularis*.

A patogenicidade de *C. clavatum* a *Pinus* spp. e *Araucaria angustifolia* foi comprovada por HODGES & MAY (1972) e por HOMECHIN (1979) em *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. ALFENAS (1986) cita as espécies de *C.*

brasiliensis, *C. clavatum*, *C. crotalariae*, *C. illicicola*, *C. pteridis*, *C. quinqueseptatum* e *C. scoparium* causando enfermidades em várias essências florestais. *Cylindrocladium scoparium* tem sido uma espécie predominante em sementeiras de *Pinus* e *Eucalyptus*, e ocasionadora de podridões de pré e pós-emergência (FERREIRA, 1989).

3.3 NICHOS DE SOBREVIVÊNCIA DE *Cylindrocladium clavatum*

FERREIRA (1989), como fitopatologista do PRODEPEF - Programa de Desenvolvimento e Pesquisa Florestal, a partir de 1974 em Itabira, Minas Gerais, realizou estudos de disseminação e sobrevivência de *C. clavatum*. O mérito do estudo foi a verificação da sobrevivência do fungo em vários substratos, tais como: solos reflorestados, solos de matas naturais, terriços e rizosfera de plantas sadias. KRUGNER *et alii* (1980) procederam a estudos idênticos em solos dos municípios de Uberlândia, Monte Carmelo e Pirapora-MG, verificando a presença de *C. clavatum* em amostras de solos provenientes de: a) piso de viveiros de *Pinus* spp.; b) subsolo utilizado para o enchimento de recipientes de mudas; c) solos virgens, ainda não cultivados com *Pinus* spp., englobando-se nestes, áreas intactas de cerrado, desmatadas, e as aradas; e d) solos de plantações de *Pinus* spp. retirados de adjacências de raízes de árvores sadias e, doentes ou mortas. Concluíram, que *C. clavatum* é um fungo indígena nas áreas estudadas de reflorestamento, habitando e

sobrevivendo na rizosfera de plantas sadias e doentes e, em solos do cerrado sem reflorestamento, principalmente no Município de Monte Carmelo-MG. ALMEIDA & BOLKAN (1981) verificaram a presença de *C. clavatum* em solos cultivados e não cultivados do cerrado de Brasília-DF.

HOMECHIN & KRUGNER (1980) complementando estudos realizados na região do cerrado de Minas Gerais, comprovaram a patogenicidade de *C. clavatum* com três isolados, dois da rizosfera de árvore sadia e solo virgem de cerrado e um de tecido de raízes doentes, demonstrando por inoculações a semelhança dos sintomas que eram observados em árvores no campo. Os sintomas observados evidenciaram ser *C. clavatum* o agente causal da podridão de raízes, freqüente em várias áreas reflorestadas com espécies de *Pinus* tropicais na região do Triângulo Mineiro e Pirapora, comprovando a patogenicidade de *C. clavatum* a espécies de *Pinus* tropicais. Essas associações foram também registradas por outros fitopatologistas que estudaram a morte de plantas apresentando podridões de raízes, e relacionadas à *Cylindrocladium clavatum*. ROBBS *et alii* (1982), investigando a etiologia de uma enfermidade que incitava podridão de raízes em plantas jovens e adultas do guaranazeiro, *Paullinia cupana* var. *sorbilis*, nos Estados do Pará, Amazonas e Bahia, isolaram e identificaram o fungo *C. clavatum* como sendo o agente causal, conduzindo apenas testes de patogenicidade. Igualmente, foi registrada a predisposição de plantas, as quais apresentavam torções ou

enovelamento de raízes devido a falhas humanas durante o processo de repicagem e plantio, à infecção por *C. clavatum*. O patógeno foi também isolado de solos de rizosfera de plantas afetadas, bem como de outros solos e terriços, sendo comprovado em todos os casos sua patogenicidade em plântulas do guaranazeiro. ALMEIDA *et alii* (1983) registraram a ocorrência de uma podridão de raízes de urucum (*Bixa orellana*) a qual resultava em declínio e/ou morte das plantas, com idade entre um e dois anos, e em fase de produção. O plantio localizado no município de Monte Alegre de Minas-MG, com 120 ha, foi implantado em solo de cerrado virgem, recém desbravado. O exame do sistema radicular das plantas afetadas ou não, revelou a presença de raízes enoveladas com pivotante retorcida, provavelmente resultando de repicagens mal conduzidas ou plantios em covas rasas e mudas já passadas. O fungo isolado com maior frequência foi *C. clavatum*, que, se mostrou patogênico a este bem como a outros hospedeiros. Um ensaio conduzido sem bases experimentais em solos artificialmente infestados pelo patógeno, mostrou maiores índices de infecção das mudas quando estas foram introduzidas no substrato com raízes previamente retorcidas durante a repicagem, enquanto que as repicadas com arquitetura normal pouco ou nada sofreram. Os resultados levaram ao consenso de que *C. clavatum* poderá sobreviver em solos cultivados ou não, representando uma permanente ameaça à culturas suscetíveis. Sabe-se que são as estruturas de resistência do fungo denominadas de

microescleródios, as responsáveis pela sua sobrevivência, sem necessariamente se utilizar de um hospedeiro.

ROBBS *et alii* (1988) relacionaram elevadas incidências causadas pela bactéria *Pseudomonas solanacearum* em povoamentos de *Eucalyptus* spp., em solos de mata virgem ou anteriormente desbravados, na Campanhia Florestal Monte Dourado, Jari-PA. A mesma ocorrência com índices de mortalidade chegando a 30% foram registradas na Duratex Florestal, Esplanada-Ba. Em ambas, a mortalidade era mais elevada nos talhões em que as plantas de até dois anos de idade apresentavam sérias deformações do sistema radicular, pouco ou nada se verificando com plantas dotadas de arquitetura aceitável das raízes. Sabe-se que *P. solanacearum*, é indígena e residente nos solos da região amazônica e apresenta extensa lista de hospedeiros, suscetíveis ou tolerantes ao patógeno.

A literatura consultada revela a presença do fungo *C. clavatum* em diferentes regiões brasileiras, com extensa lista de hospedeiros, a qual aumenta anualmente. Os trabalhos fazem menções levantando possíveis correlações do patógeno com agroecossistema (silvicultura e fruticultura) cujos componentes pecam por apresentarem o sistema radicular com arquitetura inadequada, não têm mostrado evidências experimentais baseadas em estatística. Sugerem através de meras observações ou experimentos simples, essas predisposições à infecções causadas por *Cylindrocladium*

clavatum. A confirmação dessas associações poderá oferecer subsídios reais de estratégias para o controle, resultando em grande economia para as empresas de reflorestamento do País.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCALIZAÇÃO DAS AMOSTRAGENS

A primeira área estudada foi localizada na Fazenda Monte Alegre de propriedade da Klabin do Paraná Agro-Florestal S/A, no município de Telêmaco Borba-PR, entre os paralelos $24^{\circ}02'02''$ e $24^{\circ}27'48''$ latitude sul e entre os meridianos $50^{\circ}17'$ e $50^{\circ}55'$ longitude oeste de Greenwich, em uma altitude média de 850m. A segunda área de coleta das amostras de solos foi localizada em Três Barras de propriedade da Rigesa Papel e Celulose, no município de Lages-SC, entre os paralelos 27° e 28° latitude sul e entre os meridianos 49° e 50° longitude oeste de Greenwich com altitude média de 768m.

4.2 CLIMA E VEGETAÇÃO DAS ÁREAS LEVANTADAS

4.2.1 CLIMA

Os dados climáticos das regiões de estudo são:

a) Fazenda Monte Alegre-PR, precipitação média anual 1.450mm, temperaturas médias entre 15°C e 22°C , com

ocorrência de 2 a 6 geadas por ano. b) Três Barras-SC, precipitação média anual 1.500mm, temperaturas oscilando entre -10°C (mínima) e 37°C (verão), com ocorrência de 12 a 20 geadas por ano.

4.2.2 VEGETAÇÃO

Na fazenda Monte Alegre-PR, o reflorestamento foi realizado em áreas de campo e em substituição as matas secundárias de *Araucaria augustifolia*, degradadas. Enquanto que na fazenda de Três Barras-SC, os reflorestamentos com *Pinus* e *Eucalyptus* foram conduzidos em áreas degradadas de mata de alto fuste de *A. augustifolia* e *Ocotea porosa*.

4.3 OBSERVAÇÕES EM CAMPO COM DECLÍNIO E/OU MORTALIDADE DE *Pinus* spp. E *Eucalyptus* spp. ASSOCIADOS A PRESENÇA DE RAIZES MALFORMADAS

De 1983 a 1986, semestralmente foram realizadas através de visitas várias observações, acompanhamentos e avaliações em florestas de *P. taeda*, *P. elliotii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, com idades entre dois a cinco anos de plantio, em áreas das fazendas Monte Alegre-PR e Três Barras-SC. Em 1987 resolveu-se então avaliar e acompanhar as correlações entre árvores sadias e as portadoras de declínio ou mortas, escolhendo-se 50 árvores em cada hectare, sadias ou em estágio senescente para verificação do

sistema radicular. Foram avaliadas um total de 200 árvores de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp. distribuídas ao acaso em 5 blocos.

O processo consistiu na remoção da camada do solo do rizoplano e raspagens da rizosfera com a exposição das raízes principais e secundárias. Foram observados casos de malformações, tais como enovelamentos ou deformações, associadas ou não à presença de necroses de tecidos (FIGURA 1). Nos casos de *Pinus* spp. as deformações apresentaram exsudação de resina.



FIGURA 1. Raízes de planta de *E. grandis* enoveladas, e com podridões desenvolvida na Fazenda Monte Alegre, Telêmaco Borba-PR, 1985.

4.4 COLETA DE AMOSTRAS DE SOLO E ISOLAMENTOS DE *Cylindrocladium* spp.

Após as observações e análises procedidas, procurou-se averiguar uma possível etiologia para tais podridões de raízes, a qual conduzia as plantas ao declínio e a morte. Suspeitas anteriores já haviam sido levantadas por HOMECHIN & KRÜGNER (1980) em *Pinus* spp., associadas a *C. clavatum* em Minas Gerais por ROBBS *et alii* (1982) e ALMEIDA *et alii* (1983), respectivamente com guaranazeiro e urucuzeiro. Após a constatação em plantas de *Pinus* e *Eucalyptus* com idades entre dois e cinco anos, empregando a metodologia descrita no item 4.3 procedeu-se à coleta de 5 amostras do rizoplano e raspagens de solo agregado as raízes da rizosfera. O objetivo foi isolar *Cylindrocladium* spp., cujos propágulos em grande número achavam-se presentes na superfície dos tecidos necrosados das raízes e associados provavelmente às mortalidades.

Todas as árvores mortas ou senescentes escolhidas exibiam raízes necrosadas em maior ou menor extensão e apresentavam diferentes níveis de malformações como conseqüência de um manejo inadequado das mudas no viveiro e/ou solos com preparo inadequado.

Paralelamente, empregando-se a mesma metodologia anterior, das mesmas áreas foram retiradas amostras de solos de árvores sadias e/ou apresentando aceitável arquitetura do sistema radicular. Foram coletados ainda

solos de áreas contíguas, em pousio ou anteriormente cultivados com *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp., e aparentemente virgens. As amostras foram retiradas durante os meses de maio e junho de 1987 e analisadas em julho do mesmo ano. As amostras retiradas de árvores afetadas ou sadias eram conduzidas em perfis abrangendo camadas de 0 a 20 cm de profundidade de solo, incluindo ligeiras raspagens externas de solos das raízes necrosadas mais grossas. Cada amostra perfazia um total de 500 g de solo. Das áreas de solos aparentemente virgens de *Pinus* e *Eucalyptus*, ou ocupadas anteriormente por essas culturas e que se achavam em pousio, as amostras foram retiradas de áreas com aproximadamente um hectare, na profundidade de 0 a 10 cm, em cinco pontos diferentes, totalizando 500 g cada.

As coletas, com o devido histórico da área, e totalizando cinco por retirada foram homogeneizadas, constituindo a amostra composta de 2.500 g. Desta, foram retiradas amostras representativas para a análise qualitativa de propágulos fúngicos constituídas por 1.000 g de solo, totalizando um número de onze (TABELA 1).

TABELA 1. RELAÇÃO DE AMOSTRAS DE SOLO RETIRADAS DE ÁREAS DAS FAZENDAS MONTE ALEGRE-PR E TRÊS BARRAS-SC, PARA ISOLAMENTO DE *Cylindrocladium* spp., JUNHO DE 1987.

=====	
AMOSTRA COMPOSTA DE 5 SUBAMOSTRAS 1.000 g	LOCAIS E HISTORICO DAS AMOSTRAS
01	Fazenda Monte Alegre-PR. - coleta do rizoplano e raspagens da rizosfera, cinco árvores mortas recentemente, raízes malformadas, dois anos de idade, <i>P. taeda</i> .
02	Fazenda Monte Alegre-PR. - coleta do rizoplano e raspagens da rizosfera, cinco árvores mortas ou moribundas, raízes enoveladas, dois anos e meio de idade, <i>E. grandis</i> .
03	Fazenda Monte Alegre-PR. - coleta do rizoplano e raspagens da rizosfera, cinco árvores saudáveis, raízes arquitetura aceitável, um ano de idade, <i>P. elliotii</i> .
04	Fazenda Monte Alegre-PR. - coleta de solo e terriço fino de mata, área ainda não utilizada em reflorestamento, aparentemente virgem.
05	Fazenda Monte Alegre-PR. - coleta de solo recentemente preparado e já utilizado em reflorestamento.
06	Três Barras-SC. - coleta de rizoplano e raspagens da rizosfera, árvores mortas, raízes malformadas, quatro anos de idade, <i>E. viminalis</i> .
07	Três Barras, SC. - coleta do rizoplano e raspagens da rizosfera, árvores recentemente mortas, raízes ligeiramente enoveladas, dois anos e meio de idade, <i>P. taeda</i> .

Continua ...

TABELA 1, Cont.

=====	
AMOSTRA COMPOSTA DE 5 SUBAMOSTRAS 1.000 g	LOCAIS E HISTORICO DAS AMOSTRAS
=====	
08	Três Barras-SC. - coleta do rizoplano e raspagens da rizosfera, cinco árvores sadias, raízes com arquitetura aceitável, quatro anos de idade, <i>E. viminalis</i> .
09	Três Barras-SC. - coleta de solos de mata com terriço fino, área ainda não utilizada em reflorestamento.
10	Três Barras-SC. - coleta do rizoplano e raspagens da rizosfera, cinco árvores sadias, raízes ligeiramente enoveladas, três anos de idade, <i>P. taeda</i> .
11	Três Barras-SC. - coleta de solo em pousio, colonizado por invasoras, cultivado anteriormente (dois anos), com <i>Pinus</i> spp.
=====	

As amostras foram acondicionadas em sacos de polietileno, devidamente fechadas e conservadas em armários por um período máximo de 30 dias, e após quando se iniciou o processamento das mesmas realizando-se os isolamentos. Cada amostra de 1.000 g foi subdividida em quatro subamostras de 250 g. Os isolamentos foram realizados no laboratório de Patologia Florestal do Depto. de Silvicultura (D.S.) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. A fim de cotejar os resultados obtidos no D.S. foram remetidas subamostras para o Centro Nacional de Defesa da Agricultura (CNPDA) da EMBRAPA, Jaguariúna, Estado de São Paulo, ficando

as mesmas aos cuidados do Professor C.F. Robbs, pesquisador daquela instituição.

Para os isolamentos de possíveis espécies de fungos do gênero *Cylindrocladium*, e particularmente *C. clavatum*, um dos principais objetivos da pesquisa, foi empregado o método de iscas com folhas de mamoneira (*Ricinus communis*), e de acordo com a metodologia descrita por ALMEIDA *et alii* (1982), empregando-se cinco placas por subamostra, em ambos os laboratórios. A partir das estruturas fúngicas que se formavam na superfície das folhas e em particular sobre as nervuras, foram realizadas diluições constituídas principalmente pelos conídios em água estéril, e semeada em meio de cultura ágar-batata-dextrose (BDA) com a inclusão de 1.000 ppm de sulfato de estreptomicina com auxílio de uma alça de Drigalsky em placas de Petri. As estruturas formadas na superfície das folhas e constituídas por conidióforos, conídios, estirpes e vesículas de *Cylindrocladium sp.*, foram transferidas para lâminas contendo azul-lático fenolado como corante e seladas provisoriamente com esmalte de unhas incolor. Essas preparações semipermanentes, coloridas, serviram para futuros estudos taxonômicos das espécies envolvidas. As culturas obtidas foram examinadas, numeradas e preservadas em tubos de BDA recobertas com óleo mineral para identificações e futuros testes de patogenicidade. A numeração das subculturas obedeceu aos números das amostras de solo correspondentes, totalizando cinco tubos.

4.5 IDENTIFICAÇÕES PRELIMINARES E SELEÇÃO DOS ISOLADOS A SEREM UTILIZADOS NO EXPERIMENTO

Inicialmente foram identificadas as espécies mais prevalentes de *Cylindrocladium* presentes, a partir dos isolamentos obtidos. Em sua grande maioria foram classificados como sendo *C. clavatum*, de acordo com a descrição da literatura (HODGES & MAY, 1972), e a chave taxonômica elaborada por ALFENAS (1986). Foram identificados apenas dois isolados de *C. scoparium*, nas amostras 01 (CNPDA) e 08 (D.S.), número considerado pouco significativo para ser incluído na presente pesquisa.

Para uma seleção das culturas mais virulentas a serem utilizadas no experimento, realizou-se um teste preliminar em plântulas de *P. taeda* e *E. grandis*, as quais seriam eleitos para avaliação simulada final. As sementes das espécies florestais foram desinfestadas através da imersão durante três minutos em solução de hipoclorito de sódio contendo 1,5% de cloro ativo. Após, foram lavadas com água esterilizada e finalmente secas ao ar. O substrato para germinação foi um Latossolo Vermelho, peneirado (malha 2,5 mm) e misturado na proporção de três partes para uma de terriço de mata também peneirado. O substrato foi autoclavado durante uma hora e meia, a 120°C. Em seguida foi incorporado o inóculo, constituído pelas culturas puras do fungo identificadas como 02, 04, 06, 07 e 09 provenientes dos isolamentos indiretos efetuados que demonstraram elevado

potencial de inóculo no solo. O inóculo foi preparado a partir das culturas desenvolvidas em placas de BDA, durante 12 dias, as quais foram passadas em liquidificador durante 3 minutos com a adição de 100 ml de água estéril. Após passada em tecido de gaze e finalmente completada para 500 ml com água estéril, constituindo uma suspensão de conídios (10^2 esporos por ml), avaliada em câmara Neubauer improved $0,0025 \text{ mm}^3$, da marca Assistant (hematocitômetro), micélio, hifas frutificativas e microescleródios. Os 500 ml da suspensão 10^2 esporos/ml foi misturada e incorporada manualmente, em 1.500 g do substrato, e após acondicionada em caixas de plástico (germo-box), medindo 20 x 20 x 2 cm, com capacidade para 500 g de solo. O substrato após inoculado foi mantido durante três dias em laboratório antes da semeadura com as espécies eleitas. As caixas-testemunha receberam quantidades iguais de meio de cultura triturado e não inoculado. Com auxílio de microscópio estereoscópico (20 X), foram separados lotes de 200 sementes com aproximadamente 90% de poder germinativo. Em seguida foram semeadas em germo-box, empregando-se três repetições por cultura e cada hospedeiro, com uma testemunha, perfazendo um total de 36 germo-boxes.

As avaliações foram realizadas 30 dias após a semeadura e consistiu da determinação do percentual de podridões em pré e pós-emergência (total de plântulas vivas), comparadas com o número de plântulas nas caixas-testemunha.

4.6 TESTES DE PATOGENICIDADE EM MUDAS COM RAIZES NORMAIS E COM MALFORMAÇÕES INDUZIDAS

A fim de obter dados que pudessem comprovar as hipóteses da predisposição de plantas de *P. taeda* e *E. grandis* às infecções causadas por *C. clavatum*, e relacionadas à malformação de raízes durante o manejo ou plantio das mudas, foram conduzidos experimentos em casa de vegetação. Empregou-se a metodologia descrita por ALMEIDA *et alii* (1983), com modificações, em experimentos com delineamento estatístico e condições de casa de vegetação.

Numa primeira fase, a metodologia consistiu no preparo de mudas de *P. taeda* e *E. grandis*, providas de raízes com arquitetura normal e outras apresentando à malformação do sistema radicular, devido ao confinamento em invólucros de pequeno volume. Sementes de *P. taeda* e *E. grandis* foram desinfestadas como no item 4.5 e 10 unidades foram semeadas em copos plásticos de dois tamanhos. Os invólucros destinados a conter mudas para confinamento de raízes possuíam as dimensões: 7 cm de diâmetro, 5 cm de fundo, por 6 cm de altura, com capacidade de 180 ml. Os maiores, com capacidade para 500 ml, possuíam: 8 cm de diâmetro, 5 cm de fundo e 13 cm de altura. A procedência dos copos era da Miniplast, Urussanga, Estado de Santa Catarina. Para a drenagem foram abertos quatro furos na parte lateral dos copos, próximo ao fundo. O substrato para enchimento dos invólucros constituiu da mistura 30% de

Latossolo Vermelho, 20% de terriço de mata peneirado e 50% de areia. A mistura deveria permitir uma repicagem das mudas, praticamente sem maiores injúrias de raízes.

Para cada metro cúbico de substrato foi acrescentado 2,5 kg de superfosfato simples e 250 g de cloreto de potássio. Uma vez misturados os ingredientes, o substrato foi colocado em manilhas de 80 cm de diâmetro e 40 cm de altura na posição vertical e contendo uma camada de 10 cm de pedra britada nº 1 no fundo. Em seguida, foi tratado com o fumigante brometo de metila na dosagem de 150 ml por metro cúbico. A parte superior da manilha foi coberta com plástico preto, permanecendo durante 48 horas. Uma vez desinfestado, o substrato foi transportado para caixas de madeira e revolvido durante uma semana para eliminação de gás residual. Em seguida, o substrato foi distribuído nos copos de dois tamanhos, e semeados. Cada grupo de dez invólucros foi disposto em caixas de madeira e colocadas em casa de vegetação, totalizando 600 mudas. No estágio de desbaste das plântulas, foi deixada apenas uma muda por invólucro 60 dias após verificado o encurvamento da raiz pivotante e o início de enovelamento de raízes nos copos de menor volume, procedeu-se à repicagem. Durante esse período fez-se o acompanhamento nutricional das mudas, aplicando-se soluções nutritivas, contendo macro e microelementos, para corrigir eventuais deficiências. A repicagem das mudas, com raízes normais e enoveladas, para sacos de polietileno não sanfonados, cor preta, com as dimensões de 10 cm de largura

por 20 cm de altura e providos de dez furos na metade inferior para efeito de drenagem, foi realizada de modo a evitar quaisquer danos ao sistema radicular. O substrato neste caso era constituído de 40% de Latossolo Vermelho, 40% de terriço de mata e 20% de areia que, depois de misturado, foi desinfestado com brometo de metila a 150 ml por metro cúbico, durante 48 horas em manilhas. Após a desinfestação o substrato foi disposto em caixas de madeira e revolvido, para aeração, durante uma semana, antes da inoculação com o patógeno.

Foram eleitos os isolados 02 e 07 (TABELA 3) registrados como os mais virulentos nas 3 repetições para os dois hospedeiros no teste preliminar de avaliação de tombamento de pré e pós-emergência. Para infestação do substrato, o inóculo de *C. clavatum* foi preparado triturando-se em liquidificador as colônias desenvolvidas em placas de BDA, durante 12 dias com 250 ml de água esterilizada, conduzindo-se as duas culturas de *C. clavatum*. Foram adicionadas 100 ml da suspensão do inóculo para cada quilograma de solo umedecido desinfestado e esparramado em bandejas plásticas de 30 x 40 cm com 5 cm de altura. Após a mistura manual do inóculo ao substrato, este permanecia em repouso por um período de três dias antes do acondicionamento parcial nos sacos plásticos. Igual tratamento foi realizado sem o inóculo de *Cylindrocladium clavatum* e com substrato desinfestado para as testemunhas. Foram então repicadas cuidadosamente as mudas de raízes

normais e as malformadas para os sacos de polietileno, completando-se o volume com substrato, evitando-se injúrias de raízes. Do total de 600 mudas preparadas, foram aproveitadas um total de 480, sendo 240 com o substrato inoculado pelas culturas 02 e 07, e 240 sem o substrato infestado. Após o transplante, as embalagens foram então dispostas em bandejas de alumínio com capacidade para 10 mudas e alocadas em casa de vegetação. Além das regas normais, quinzenalmente, procedeu-se a aplicação com solução nutritiva de Hoogland constituída por macro e microelementos. As médias das temperaturas máxima e mínima na casa de vegetação variaram de 19° a 28°C.

Na avaliação da incidência de patógenos inoculados artificialmente em plantas sob condições semi-artificiais de casa de vegetação, tem-se como um dos fatores limitante à obtenção de contrastes significativos em termos estatísticos, a grande variabilidade dos resultados ocasionada por distribuição desuniforme do inóculo ou pela utilização inadequada dos delineamentos experimentais. A redução dessas limitações a níveis aceitáveis é estatisticamente possível através de técnicas que fazem uso dos conceitos de precisão e eficiência de uma amostra. No experimento desenvolvido, procurou-se comprovar a maior predisposição de mudas de *P. taeda* e *E. grandis* em simulação e a curto prazo, à semelhança do que ocorre no campo, a médio e longo prazos.

O experimento conduzido foi constituído por quatro delineamentos experimentais completamente casualizados, com três repetições e quatro tratamentos aplicados a *P. taeda* e *E. grandis*, cada qual com o emprego de dois isolados de *C. clavatum* de números 02 e 07, onde se avaliou a mortalidade das plantas. Assim, os quatro experimentos realizados foram:

Experimento 1 - *P. taeda*, mudas com substratos infestados e não infestados, com raízes normais e malformadas, cultura 02;

Experimento 2 - *P. taeda*, mudas com substratos infestado e não infestados, com raízes normais e malformadas, cultura 07;

Experimento 3 - *E. grandis*, mudas com substratos infestados e não infestados, com raízes normais e malformadas, cultura 02; e

Experimento 4 - *E. grandis*, mudas com substratos infestados e não infestados, com raízes normais e malformadas, cultura 07.

Cada parcela experimental foi constituída de 10 plantas, das quais no fim do experimento foram contadas as mortas com murchamento após a aplicação do tratamento. Os resultados são fornecidos em porcentagem de plantas mortas

ou murchas, causadas por necroses de raízes em cada parcela. As avaliações de patogenicidade foram baseadas na presença inicial de sintomas de descolorações da parte aérea, evoluindo para um declínio e morte das plantas. Foram então examinadas necroses presentes no sistema radicular e comprovada a presença de *C. clavatum*, através de reisolamentos de tecidos em BDA mais 1.000 ppm de sulfato de estreptomicina. As avaliações, quinzenalmente por um período de 70 dias, foram totalizadas e registradas. As mortes por *C. clavatum* foram comprovadas por reisolamentos à medida que as mudas mostravam sinais de senescência e pereciam.

Os dados levantados dos experimentos foram avaliados estatisticamente através de Análise de Variância para verificar a homogeneidade dos números. Em seguida, o teste de Tukey foi realizado para determinar diferenças entre as médias, $P = 0,05$ (ZAR, 1974).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das observações visuais de árvores sadias de *P. taeda*, *P. elliottii*, *E. grandis* e *E. viminalis* e com sintomas de declínio ou mortas, nas áreas das Fazendas Monte Alegre-PR e Três Barras-SC, no período de 1983 até 1986, indicaram correlação entre a arquitetura do sistema radicular das plantas examinadas e a mortalidade das mesmas (FIGURA 1), pg. 15. O exame de 200 árvores mortas ou em declínio, tomadas ao acaso nas referidas áreas, revelou o índice de 85% de malformação de raízes contra apenas 15% de árvores com arquitetura do sistema radicular de bom a aceitável. Os sintomas exibidos na parte aérea de árvores de *Pinus* consideradas enfermas eram constituídos por um amarelecimento das acículas. Nesse estágio, grande parte das raízes apresentavam áreas mortas com exsudação de resina. Em seguida, a copa assumia coloração vermelho-escuro, o que antecedia à morte da árvore. Em *Eucalyptus*, (FIGURA 2) os sintomas da parte aérea eram semelhantes com a presença da necrose de raízes sem, no entanto,



FIGURA 2. SETA INDICANDO REBOLEIRAS DE MUDAS DE *E. grandis*, COM DECLINIO E PODRIDAO DE RAIZES CAUSADA POR *C. clavatum*, Fazenda Monte Alegre, Telêmaco Borba, PR, 1985.

apresentarem os sinais constituídos pela exsudação de resina. As árvores aparentemente sadias apresentavam sistema radicular de bom a aceitável.

A referida sintomatologia foi descrita por HODGES & MAY (1972), e posteriormente por HODGES *et alii* (1973), sem exibirem provas de potogenicidade do fungo. As associações de raízes enveladas e incidência de fungos já haviam sido aventadas por HOMECHIN & KRUGNER (1980) quando estudaram a patogenicidade de isolados de *C. clavatum* em *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa* no Triângulo Mineiro. Assim, os referidos pesquisadores registraram a seguinte observação:

"A ocorrência de envelamento de raiz, bastante comum na região estudada, pode também estar envolvida no problema, como fator de predisposição, ao tornar as árvores mais suscetíveis ao ataque do fungo, ou propiciando portas de entradas para o fungo em decorrência da morte de raízes por estrangulamento".

Dos isolamentos realizados a partir das amostras de solos retiradas do rizoplano e rizosfera de árvores mortas e das aparentemente sadias de *P. taeda*, *P. elliottii*, *E. grandis* e *E. viminalis*, de solo de mata e cultivados, nas áreas da Fazenda Monte Alegre-PR e de Três Barras-SC (TABELA 1, pg. 18 e TABELA 2) conclui-se que

TABELA 2. PORCENTAGEM DE ISOLADOS DE *Cylindrocladium* spp. OBTIDOS NAS AMOSTRAS RETIRADAS DO RIZOPLANO E RIZOSFERA DE CULTIVOS DE *Pinus* e *Eucalyptus* E DE MATA PELO METODO DE ISCA COM FOLHAS DE MAMONA, CONDUZIDOS NOS LABORATORIOS DO DS/UFRRJ E CNPDA/EMBRAPA, JULHO DE 1987.

=====			
AMOSTRAS	PERCENTAGEM DE <i>Cylindrocladium</i> POR LABORATORIO (n=5)		ISOLADOS DE <i>C. clavatum</i>
Nº	UFRRJ	CNPDA	Nº
01	20	40 ^{1/}	01
02	100	80	02 ^{3/}
03	0	20	03
04 ^{2/}	80	60	04
05	0	0	-
06	60	100	06
07	100	80	07 ^{3/}
08	20 ^{1/}	60	08
09 ^{2/}	60	40	09
10	20	0	10
11 ^{2/}	0	0	-

1/ Presença de *C. scoparium*, associado ou não a *C. clavatum*.

2/ Solos de mata ou em pousio.

3/ Isolados de *C. clavatum* selecionadas para os experimentos em *P. taeda* e *E. grandis*.

com exceção das amostras 05 e 11, (TABELA 2) obtidas de solo em manejo ou em pousio, todas as demais exibiram a presença do fungo *C. clavatum*, confirmada nos dois laboratórios, indicando a ampla distribuição do patógeno oportunista em solos e na rizosfera das espécies florestais estudadas. Este resultado comprovou dados obtidos anteriormente por outros pesquisadores, revelando que sua sobrevivência longa é através de microescleródios e associação a ampla faixa de hospedeiros. Também confirma as observações realizadas entre 1983 e 1986. O fungo *Cylindrocladium scoparium* identificado nas amostras 01 e 08 (TABELA 2), pg. 32, respectivamente nos laboratórios do CNPDA da EMBRAPA e do DS da UFRRJ, não mostrou de importância significativa no estudo. Os isolados de *C. clavatum* obtidos e presentes em todas as amostras de solo confirmou a ampla distribuição do fungo e afirmações de KRUGNER *et alii* (1980), HOMECHIN (1979), ALMEIDA & BOLKAN (1981) e FERREIRA (1989).

Para a seleção dos isolados mais virulentos, os resultados obtidos baseados nas plantulas com podridões em pré e pós-emergência (total de plantas vivas), comparadas com o número de plântulas testemunhas (n=180) (TABELA 3), permitiram a escolha dos isolados 02 e 07 para os próximos testes.

TABELA 3. PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *C. clavatum* A PLANTULAS DE *P. taeda* E *E. grandis*, EXPRESSA EM PORCENTAGEM DE PLANTAS VIVAS COMPARADAS A TESTEMUNHA, AOS 30 DIAS APÓS SEMEIO. DS, RIO DE JANEIRO, AGOSTO DE 1987.

Cultura (Nº)	Plantas Vivas (%) ^{1/}	
	<i>P. taeda</i>	<i>E. grandis</i>
02	52,7	88,8
04	80,5	90,0
06	77,7	83,3
07	27,7	69,4
09	58,3	77,2
T ₂ ^{2/}	100,0	100,0

^{1/} Média de três repetições (n=3).

^{2/} n=180

Para eucaliptos os resultados obtidos foram diferenciado para virulência, em relação aos que foram utilizados por ALMEIDA & BOLKAN (1981), com valores entre 80 e 99% de tombamento. ALFENAS *et alii* (1988), em solos artificialmente infestados obtiveram com isolados de *C. clavatum* reduções de 28% na germinação e 68% de tombamento aos 100 dias, em relação à testemunha, quando este solo foi semeado com *E. oloeziana*.

A análise de variância aplicada aos resultados indicaram, nos quatro experimentos (TABELAS 4, 5, 6 e 7), valores de F significativos ao nível de 5%.

TABELA 4. PROPORÇÃO DE MUDAS DE *P. taeda* CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR *C. clavatum*, ISOLADO 02, COM BRONZEAMENTO E SECA DE ACICULAS. EXPERIMENTO 1. UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO 1988.

Substrato Infestado <u>1/</u>		Substrato não infestado <u>1/</u>	
Raízes		Raízes	
Malformadas	Normais	Malformadas	Normais
0,5	0,0	0,0	0,0
0,8	0,2	0,3 ^{2/}	0,0
0,9	0,3	0,0	0,0

1/ Dados transformados em decimal.

2/ Raízes descoloridas, possivelmente estresse hídrico.

TABELA 5. PROPORÇÃO DE MUDAS DE *P. taeda* CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR *C. clavatum*, ISOLADO 07, COM BRONZEAMENTO E SECA DE ACICULAS. EXPERIMENTO 2, UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO DE 1988.

Substrato Infestado <u>1/</u>		Substrato não infestado <u>1/</u>	
Raízes		Raízes	
Malformadas	Normais	Malformadas	Normais
0,6	0,1	0,0	0,0
0,9	0,3	0,0	0,0
1,0	0,3	0,0	0,0

1/ Dados transformados em decimal.

TABELA 6. PROPORÇÃO DE MUDAS DE *E. grandis* CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR *C. clavatum*, ISOLADO 02, COM AMARELAMENTO, MURCHA E SECA DE FOLHAS. EXPERIMENTO 3, UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO DE 1988.

Substrato Infestado <u>1/</u>		Substrato não infestado <u>1/</u>	
Raízes		Raízes	
Malformadas	Normais	Malformadas	Normais
0,8	0,0	0,0	0,0
1,0	0,0	0,1 ^{2/}	0,0
1,0	0,2	0,1 ^{2/}	0,0

1/ Dados transformados em decimal.

2/ Raízes descoloridas, possivelmente estresse hídrico.

TABELA 7. PROPORÇÃO DE MUDAS DE *E. grandis* RESULTANTES DE NECROSES DE RAÍZES, CULTIVADAS EM SUBSTRATO ARTIFICIALMENTE INFESTADO OU NÃO POR *C. clavatum*, ISOLADO 07, COM AMARELAMENTO, MURCHA E SECA DE FOLHAS. EXPERIMENTO 4, UFRRJ, RIO DE JANEIRO. JULHO DE 1988.

Substrato Infestado <u>1/</u>		Substrato não infestado <u>1/</u>	
Raízes		Raízes	
Malformadas	Normais	Malformadas	Normais
0,7	0,2	0,0	0,0
0,9	0,3	0,0	0,0
0,9	0,3	0,0	0,0

1/ Dados transformados em decimal.

Os tratamentos explicam a maior proporção de variância das respostas nos quatro experimentos.

As diferenças estatísticas ao nível de 5% obtidas com o teste de Tukey (TABELA 8) nos quatro experimentos indicam as respostas positivas das plantas em relação ao patógeno em função das raízes malformadas ou raízes normais tratadas com substratos infestados. Com base nesse resultado pode-se afirmar que a malformação das raízes conduzem a uma predisposição e infecção maior quando comparadas as raízes normais, em plantas cultivadas em solos infestado.

TABELA 8. TESTE DE TUKEY PARA AS MÉDIAS DE MUDAS DE *E. grandis* e *P. taeda* MORTAS NOS TRATAMENTOS. DADOS MOSTRADOS SÃO MÉDIAS ARITMÉTICAS DE TRES REPETIÇÕES DOS EXPERIMENTOS 1, 2, 3 e 4 COM *C. clavatum* ^{1/}.

TRATAMENTOS	ISOLADOS ^{2/}			
	02	07	02	07
	<i>Pinus taeda</i>		<i>Eucalyptus grandis</i>	
Substrato infestado				
Raízes malformadas	0,73a	0,83a	0,93a	0,83a
Substrato infestado				
Raízes Normais	0,16b	0,23b	0,06b	0,26b
Substrato desinfestado				
Raízes malformadas	0,10b	0,00b	0,03b	0,00c
Substrato desinfestado				
Raízes normais	0,00b	0,00b	0,00b	0,00c

^{1/} Dados transformados em decimal.

^{2/} Médias seguidas de diferentes letras (a, b e c), nas colunas, representam diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Não ocorreram diferenças estatísticas significativas em relação aos isolados de patógeno entre plantas com raízes malformadas e normais quando desenvolvidas em substratos não infestados. A malformação de raízes induzida, não produziu nas mudas, mortalidade maior do que as observadas com raízes normais, isto é, arquitetura adequada.

No experimento com *E. grandis*, para o isolado 07 (TABELA 8), ocorreu diferença estatística significativa ao nível de 5% entre as plantas com raízes normais e malformadas desenvolvidas em substrato infestado ou não. O fato poderá ser explicado por manejo inadequado de algumas mudas durante o transplante. Os casos observados nos experimentos 1 (TABELA 4) e 3 (TABELA 6) da morte de plantas apenas com descoloração de raízes em substrato não infestado foram atribuídos a deficiência hídrica por falha humana, pois o patógeno não pode ser isolado, o que não aconteceu com os demais casos de morte, onde foi constantemente recuperado o patógeno inoculado. Embora essa simulação venha confirmar as suspeitas formuladas por HOMECHIN & KRUGNER (1980), com *P. caribaea* var *hondurensis* e *P. oocarpa*, e testes não experimentais conduzidos por ROBBS *et alii* (1982) em guaranazeiro, e ALMEIDA *et alii* (1983) em urucuzeiro (*Bixa orellana*), associados a *C. clavatum*, caberiam algumas considerações. Os ensaios procedidos em casa de vegetação buscando explicar os fenômenos que ocorrem a médio e a longo prazo no campo não chegam a refletir uma similaridade perfeita entre os dois fenômenos. A interação

de vários parâmetros que ocorrem em ambiente natural irá certamente condicionar maior ou menor predisposição e infecção a maiores ou menores prazos nas interações patógeno-hospedeiro. Assim, o manejo das mudas no viveiro, por ocasião do plantio, bem como o preparo do solo, associado ao potencial de inóculo na área cultivada são pontos críticos na ocorrência da enfermidade. A mudança do manejo dos viveiros de eucaliptos, ocorrida em Minas Gerais entre 1971-1972, saindo da fase de sementeiras e passando para o da semeadura direta em recipientes, muito contribuiu para o controle ao tombamento de mudas ou "damping-off", não só dos eucaliptos como de *Pinus* spp. (FERREIRA, 1989). Outro aspecto positivo com a adoção dessa prática foi o de obter melhor arquitetura radicular com mudas no plantio direto. Infelizmente, o problema da muda passada por falta de preparo adequado da área de plantio e/ou a espera de condições climáticas apropriadas para o reflorestamento, têm conduzido o sistema radicular a uma série de deformações causadas pelo espaço restrito a ser ocupado nos recipientes. Essas mudas, plantadas às pressas em covas rasas ou solos mal preparados e nem sempre com uma disposição mais adequada das raízes, são a curto, médio ou longo prazo presas fáceis de patógenos oportunistas habituais do solo, como por exemplo *C. clavatum*. É possível que esse fato ocorra com freqüência em mudas de frutíferas lenhosas inadequadamente plantadas (ROBBS, comunicação pessoal). Assim verificou-se uma elevada ocorrência dos fungos patogênicos de raízes, *Phytophthora* spp., *Fusarium solani*, e mesmo de bactérias como

Pseudomonas solanacearum afetando tecidos malformados do sistema radicular (ROBBS *et alii*, 1988). Nas plantas esses enovelamentos induzem a presença de microinjúrias, porta de entrada de muitos patógenos e cuja suscetibilidade dos tecidos poderá ser agravada por um excesso hídrico.

O mérito do estudo foi portanto o de apontar as consequências de um manejo inadequado de mudas lenhosas em viveiros e que poderá ser agravado por plantios defeituosos, muito comum no Brasil. O problema se agrava quando o defeito acha-se associado ao afogamento do coleto por condições impróprias de um compactado ou mal preparado solo, a um potencial mais elevado de propágulos de *C. clavatum*, se tornando mais evidente, após o primeiro ano de plantio. Já com os índices habituais de *C. clavatum* presente em solos cultivados ou não (HOMECHIN & KRUGNER, 1980; ALMEIDA, & BOLKAN, 1981; ROBBS *et alii*, 1982 e FERREIRA, 1989), qualquer injúria de raízes provocada durante o plantio ou microinjúrias desenvolvidas em raízes malformadas durante o crescimento da planta representariam predisposição e porta aberta para a penetração e colonização de patógenos habituais como *C. clavatum*, a médio e a longo prazo. HODGES *et alii* (1973) referindo-se a ocorrência de *C. clavatum* em *Eucalyptus* escreveram:

"A relação entre *C. clavatum* e plantas jovens mortas de *Eucalyptus*, encontradas esparsas nas plantações ainda não foi demonstrada, contudo, o fungo tem constantemente sido isolado do solo em volta destas plantas".

FERREIRA (1989) referindo-se ao afogamento do coleto em eucalipto, admitiu a presença de lesões necróticas causadas por patógenos fracos, habituais, do solo como *Cylindrocladium* sp. e *Fusarium* sp. A mortalidade tem se apresentado maior em plantas de *E. grandis*, *E. urophylla* e *E. cloeziana* até os oito meses pós-plantio. Concluindo, escreveu:

"Curiosamente, a maioria desses casos tem sido relacionada com o plantio de mudas passadas. Um pensamento imediato seria o de que, talvez, tais plantas (que normalmente têm sistema radicular enovelado) sejam menos aptas para reagir, com a produção de novas raízes, às conseqüências fisiológicas dessa prática inadequada".

Os levantamentos realizados e os experimentos conduzidos nesta pesquisa puderam comprovar não só a presença de *C. clavatum* nos plantios das Fazendas Monte Alegre-PR e Três Barras-SC, como relacionar significativamente a predisposição e infecção de *P. taeda* e *E. grandis*, em mudas estressadas por raízes defeituosas ou malformadas. Essas comprovações permitiram estabelecer uma estratégia de controle baseada simplesmente no manejo adequado de mudas no viveiro e durante o plantio, no preparo do solo, evitando prejudiciais manejos culturais, que as predispõem às infecções por *C. clavatum*, práticas estas que já vem sendo observadas e adotadas por muitas empresas florestais devidamente orientadas durante o desenvolvimento deste estudo.

6 CONCLUSÕES

- 1 Os levantamentos e análises procedidos nas áreas florestais das Fazendas Monte Alegre-PR e Três Barras-SC, revelaram uma relação significativa entre *Pinus* e *Eucalyptus* apresentando declínio e morte e a presença de malformações do sistema radicular.
- 2 Os isolamentos realizados não só a partir do rizoplano ou rizosfera em plantas doentes e mortas, como solos das regiões estudadas, revelaram a prevalência do fungo *C. clavatum*.
- 3 Verificou-se dois isolados, altamente virulentos, para mudas de *Pinus* e *Eucalyptus*, nos testes preliminares de patogenicidade em pré e pós-emergência.

- 4 Os experimentos realizados com mudas de *P. taeda* e *E. grandis*, com estirpes virulentas de *C. clavatum* comprovaram a predisposição das mudas com raízes malformadas à infecção do patógeno envolvido, através de inoculações artificiais.

- 5 Os experimentos conduzidos em simulação de condições de campo e a curto prazo, ocorrerão a médio ou longo prazo, dependendo do maior ou menor potencial de inóculo presente nos solos de cultivo.

- 6 Os resultados alcançados permitem recomendar às empresas florestais, um manejo adequado de mudas nos viveiros de *Pinus* e *Eucalyptus* e, principalmente, nos plantios, evitando o emprego de mudas passadas da época de cultivo ou plantá-las em covas rasas, com o objetivo de se evitar a malformação e o enovelamento das raízes.

APENDICE

TABELA 9. ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 4

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F
Total	11	1,17	-	
Tratamentos	3	0,97	0,323	12,92*
Erro	8	0,20	0,025	

* $F(0,05) 3,8 = 4,07$.

TABELA 10. ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 5

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F
Total	11	1,51	-	
Tratamentos	3	1,39	0,46	30,66*
Erro	8	0,12	0,015	

* $F(0,05) 3,8 = 4,07$.

TABELA 11. ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 6

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F
Total	11	1,89	-	
Tratamentos	3	1,83	0,61	81,33*
Erro	8	0,06	0,0075	

* $F(0,05)_{3,8} = 4,07$.

TABELA 12. ANALISE DE VARIANCIA DOS DADOS DA TABELA 7

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F
Total	11	1,43	-	
Tratamentos	3	1,39	0,46	92,0*
Erro	8	0,04	0,0005	

* $F(0,05)_{3,8} = 4,07$.

SUMMARY

PREDISPOSITION OF *Pinus taeda* AND *Eucalyptus grandis* AFFECTED BY DEFORMED ROOT SYSTEMS TO INFECTION BY *Cylindrocladium clavatum*

Changes in the management of forest nurseries, such as direct sowing in containers with substrate in the absence of soil root pathogens, have not resolved the problems of decline and mortality of *Pinus* and *Eucalyptus* observed after planting. Those problems have been attributed to the incidence of the pathogen *Cylindrocladium clavatum*, soil inhabitant with a wide host range and distribution in Brazil in both forest and savanna soils. The occurrence of *C. clavatum* has been attributed by some researchers to be the result of host predisposition to deformed root systems, due to inadequate planting practices. Isolates from the rhizosphere of *Pinus* and *Eucalyptus* trees with more than two year, affected by decline or root rot in virgin and fallow

lands, showed a large distribution of *C. clavatum* in reforestation throughout some areas of the states of Parana and Santa Catarina. The occurrence of *C. clavatum* was closely related with a high number of plants showing badly formed root systems due to inadequate nursery management and planting practices. A greenhouse experiment with *Pinus taeda* and *Eucalyptus grandis* seedlings exhibiting normal and badly formed root systems, inoculated with pathogenic strains of *Cylindrocladium clavatum*, confirmed the hypothesis of previous research associating predisposition on the plants to infections by the pathogen. The results can be strategically used by forestry industries with similar problems, to minimize damages resulting from improperly handled nursery seedling stocks and stressed during planting to infections by *C. clavatum*, a fungus widely distributed in Brazilian soils.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AHRENS, S. Concepção de regimes de manejo para plantação de *Pinus* spp no Brasil. EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa Florestal. Circular Técnica 10, Curitiba, PR. 23 p. 1987.
2. ALFENAS, A.C. Fungos do gênero *Cylindrocladium* como patógenos florestais no Brasil. Colóquio de Patologia Florestal. *Fitopatologia Brasileira* 11(2): 276-277, 1986.
3. ALFENAS, A.C.; MOREIRA, A.M. & DEMMER, N.C. *Cylindrocladium clavatum*, como agente etiológico de tratamento de mudas de *Eucalyptus cloeziana*. *Fitopatologia Brasileira* 13(2): 126, 1988.
4. ALMEIDA, O.F. de & BOLKAN, H.A. Ocorrência e distribuição do gênero *Cylindrocladium* no Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira* 6(2): 223-228, 1981.
5. ALMEIDA, O.F. de; ROBBS, C.F. & AKIBA, F. Folhas de mamoneira: Substrato alternativo para isolamento indireto de espécies de *Cylindrocladium* do solo. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J., Itaguaí*, 5(1): 49-42, 1982.
6. ALMEIDA, O.F. de; ROBBS, C.F. & VINOTTI JUNIOR, E. Podridão de raízes do urucuzeiro (*Bixa orellana*) causada por *Cylindrocladium clavatum*. *Fitopatologia Brasileira* 8(3): 582, 1983.

7. BOEDJIN, K.B. & REITSMA, J. Note on the genus *Cylindrocladium*. *Reinwardtia* 1: 51-60, 1950.
8. CHAVES BATISTA, A. *Cylindrocladium scoparium* Morgan var. *brasiliensis* Batista & Ciferi um novo fungo do eucalipto. *Boletim da Secretaria de Indústria e Comércio de Pernambuco* 18: 188-198. 1951.
9. CRUZ, B.P.B. e FIGUEIREDO, M.B. Importância do fungo *Cylindrocladium* na cultura do eucalipto. *O Biológico* 27:106-108, 1961.
10. FERREIRA, F.A. *Doenças do eucalipto*. Capítulo IV. In: *Patologia Florestal: principais doenças florestais no Brasil*: 25-243. 1989.
11. HODGES, C.S. & MAY, L.C. A root disease of pine, *Araucaria* and *Eucalyptus* caused by a new species of *Cylindrocladium*. *Phytopathology* 62: 898-901. 1972.
12. HODGES, C.S. e REIS, M.S. & MAY, L.C. Duas enfermidades em plantações de essências florestais exóticas no Brasil. *Brasil Florestal* 15(4): 5-12, 1973.
13. HOMECHIN, M. Avaliação da patogenicidade de três isolados de *Cylindrocladium clavatum* Hodges e May em árvores de *Pinus caribaea* Morelet var. *hondurensis* Barret e Golfari. ESALQ, Piracicaba, SP, 43p. (Tese de M.S.), 1979.
14. HOMECHIN, M.B. & KRÜGNER, T.L. Avaliação de patogenicidade de três isolados de *Cylindrocladium clavatum* Hodges & May em árvores de *Pinus caribaea* Morelet var. *hondurensis* Barret & Golfari e *P. oocarpa* Shiede. *Summa Phytopathologica* 6(3-4): 107-115, 1980.
15. JANES, R.N.; TUSTIN, J.R. & STUTTON, W.R.J. Forest research institute symposium on pruning and thinning. *New Zealand Journal of Forestry* 15(1): 25-26. 1970.
16. KRÜGNER, T.L.; VALERI, S.V.; CAPITANI, L.R. & SPELTZ, G.W. Aspectos epidemiológicos de podridão da raiz de *Pinus* spp causada por *Cylindrocladium clavatum* nas regiões do Triângulo Mineiro e de Pirapora, Minas Gerais. *Silvicultura* 14. *Anais do 3º Congresso Florestal Brasileiro*, 11: 373-377, 1980.

17. REIS, M.S. O projeto florestal brasileiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 19: 3-11, 1986.
18. ROBBS, C.F.; ALMEIDA, O.C. de & MAIA, M.A.Z. Nova doença de guaranazeiro causadas por *Cylindrocladium clavatum*. *Anais do II ENFIT*, Salvador, Bahia, 11: 41-50, 1982.
19. ROBBS, C.F.; CRUZ, A.P. da & RODRIGUES NETO, J. Algumas estratégias de controle à murcha bacteriana (*Pseudomonas solanacearum*) em eucaliptos. EMBRAPA/CNPDA. Comunicado Técnico 3, 4 p. 1988.
20. SIQUEIRA, J.D.P. A atividade florestal como um dos instrumentos de desenvolvimento do Brasil. *Anais do 6o Congresso Brasileiro*, Campos do Jordão, São Paulo, volume 1: 15-18, 1990.
21. SOBERS, E.K. & ALFIERI JR., S.A. Species of *Cylindrocladium* and their hosts in Florida and Georgia. *Florida State Horticultural Society* 8: 366-369, 1972.
22. ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J., 619 p. 1974.