

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DE ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* NÃO PATOGÊNICOS NA
REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA-DE-FUSÁRIO DO TOMATEIRO**

JULIANO CESAR DA SILVA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU - SP
Abril – 2003

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DE ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* NÃO PATOGÊNICOS NA
REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA-DE-FUSÁRIO DO TOMATEIRO**

JULIANO CESAR DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Wagner Bettiol

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU - SP
Abril – 2003

Aos meus pais Francisco e Maria Antonia

Aos meus irmãos Veridiana e Francisco Donizete

Aos meus sobrinhos Brenda, Emerson e Isabella

Ao meu primo Daniel Gonçalves *“In memoriam”*

DEDICO

“Sei que prosseguir a vida não seja simplesmente conhecer a marcha e ir tocando em frente, cada um de nós compõe a sua história, cada ser em si, carrega o dom de ser capaz e ser feliz”.

(Almir Sater & Renato Teixeira)

AGRADECIMENTOS

À Deus, causa suprema de todas as coisas.

Ao professor Dr. Wagner Bettiol, pela orientação, compreensão e amizade.

À Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Câmpus de Botucatu, onde realizei o curso de Mestrado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Meio Ambiente, pela oportunidade e apoio concedidos para meu aperfeiçoamento profissional.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos para a realização deste projeto de pesquisa.

Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária, da Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu, pelos conhecimentos adquiridos e pela amizade.

Ao Dr. Angelo Garibaldi da Universidade de Torino, pela doação dos isolados de *Fusarium oxysporum* não patogênicos.

Ao Dr. Rômulo Fujito Kobori e ao Dr. Sami Jorge Michereff da Universidade de Pernambuco, pela doação dos isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 e raça 2.

Aos funcionários do laboratório de Fitopatologia - Embrapa Meio Ambiente: Mara, Anamaria, Rosely, Rosangela, Luiz Fernando e João Luiz, pela colaboração e amizade.

Aos bibliotecários Vitor Paulo Simão e Maria Amelia Toledo Leme, pelos auxílios na revisão das referências bibliográficas e summary.

Aos funcionários da área de campos experimentais - Embrapa Meio Ambiente, pelo auxílio durante a execução dos ensaios.

Aos meus avós Benedito, Joana, José e Benvinda, pelo exemplo de vida e de dignidade.

Ao Carlos Alberto Pereira, à Fabiana Fátima de Oliveira e ao Marcos Antonio Vincenzi, que estiveram presentes em momentos importantes da minha vida.

Aos amigos Nara Lúcia Perondi Fortes, Renata Nunes Soares, Daniel Andrade de Siqueira Franco, Humberto Shiomi, Idalmir dos Santos, Andreia Iruzum Linhares, Márcia Michele de Queiroz Ambrósio e Márcia Aparecida Cezar, pelo constante apoio e amizade.

Aos companheiros de turma Renata Nunes Soares, Márcia Aparecida Cezar, Márcia Michele de Queiroz Ambrósio, Rosana Sambugaro, Deine Azambuja, Alniuza Maria de Jesus, Priscila Silvério, Nara Lúcia Perondi Fortes, Denise Nozaki; Ricardo Ferrari da Silva, Fabio Venegas, Augusto G. F. Costa, Emma Luize Ottati de Lima e Nadia Cristina de Oliveira, Juliana Cristina Sodario Cruz e Yeletzia Coromoto Colmenarez, pela amizade.

Aos estagiários do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Meio Ambiente, Flavia, Cristiane, Daniela, Aldo, Alex, Pablo, Francisco, Francisco Eduardo, Márcia, Marisa, Carolina, Eder e Luciana, pela amizade durante o desenvolvimento da pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
RESUMO.....	XI
SUMMARY.....	XIII
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Raças e sintomatologia da Murcha-de-Fusário	3
2.2 Etiologia	5
2.3 Variedades de tomateiro resistentes à Murcha-de-Fusário	5
2.4 Solos supressivos à Murcha-de-Fusário	6
2.5 Controle Biológico da Murcha-de-Fusário	8
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 Obtenção dos isolados	11
3.2 Preparo do substrato para a produção e cultivo de mudas de tomateiro.....	12
3.3 Cultivar de tomate	12
3.4 Teste de patogenicidade dos isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 1 e 2	12
3.5 Variáveis avaliadas	13
3.5.1 Severidade da doença	13
3.5.2 Altura da plantas	14
3.5.3 Massas secas do sistema radicular e da parte aérea de plantas de tomateiro.	14
3.6 Efeito dos isolados de Fnp em plantas de tomateiro.....	15
3.7 Efeito dos isolados de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro	15
3.7.1 Tratamento do sistema radicular de plântulas de tomateiro com inóculo produzido em meio líquido de Fnp.....	15
3.7.2 Tratamento do substrato para o cultivo de plantas de tomateiro com inóculo produzido em talco de Fnp	16

3.7.3	Tratamento do substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo dos isolados de Fnp.....	17
3.7.3.1	Tratamento do substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo produzido em meio líquido de Fnp.....	17
3.7.3.2	Tratamento do substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo em talco de Fnp	17
3.8	Efeito de concentrações do isolado 251/2 na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro.....	18
3.9	Efeito de métodos de introdução do isolado 251/2 de Fnp na supressão da Murcha-de-Fusário do tomateiro.....	19
4	RESULTADOS.....	20
4.1	Teste de patogenicidade dos isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 1 e 2	20
4.2	Efeito dos isolados de Fnp em plantas de tomateiro.....	22
4.3	Efeito dos isolados de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro.....	24
4.3.1	Tratamento do sistema radicular de plântulas de tomateiro com inóculo produzido em meio líquido de Fnp.....	24
4.3.2	Tratamento do substrato para cultivo das plantas de tomateiro com inóculo dos isolados de Fnp.....	26
4.3.2.1	Tratamento do substrato para o cultivo de plantas de tomateiro com inóculo produzido em talco de Fnp	26
4.3.3	Tratamento do substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo dos isolados de Fnp.....	28
4.3.3.1	Tratamento do substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo produzido em meio líquido de Fnp.....	28
4.3.3.2	Tratamento do substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo produzido em talco de Fnp	30
4.4	Efeito das concentrações do isolado 251/2 de Fnp na redução da severidade da Murcha - de - Fusário do tomateiro.....	30

4.5	Efeito de métodos de introdução do isolado 251/2 de Fnp na supressão da Murcha-de-Fusário do tomateiro.....	31
5	DISCUSSÃO.....	36
6	CONCLUSÕES.....	41
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

LISTA DE TABELAS

1	Efeito de concentrações de Fol - 1 e 2 na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro.....	22
2	Efeito dos isolados de Fnp na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro.....	23
3	Efeito dos isolados de Fnp (inóculo produzido em meio líquido) na severidade da Murcha - de - Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro cultivadas em substrato infestado com Fol - 2.....	25
4	Efeito dos isolados de Fnp (inóculo produzido em talco em talco) na severidade da Murcha - de - Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular e raiz (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro cultivadas em substrato infestado com Fol - 1 e 2.....	27
5	Efeito dos isolados de Fnp no tratamento de substrato (inóculo produzido em meio líquido) na severidade da Murcha - de - Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro, cultivado em substrato infestado com inóculo de Fol - 2.	29
6	Efeito dos isolados de Fnp no tratamento de substrato (inóculo produzido em talco) na severidade da Murcha - de - Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cultivadas em substrato infestado com inóculo de Fol - 1 e 2.....	32
7	Efeito de métodos de introdução do isolado 251/2 de Fnp na severidade da Murcha - de - Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro, cultivadas em substrato infestado com os isolados de Fol - 2.....	35

LISTA DE FIGURAS

1	Efeito de concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na severidade da Murcha - de - Fusário.....	33
2	Efeito de concentrações do isolado 251/2 do isolado de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na altura de plantas de tomateiro.....	33
3	Efeito de concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na massa seca do sistema radicular de plantas de tomateiro.....	34
4	Efeito de concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na massa seca da parte aérea de plantas de tomateiro.....	34

RESUMO

A cultura do tomateiro é severamente atacada por diversas doenças, entre elas pode-se destacar a Murcha-de-Fusário. O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a eficiência de isolados de *Fusarium oxysporum* não patogênicos (Fnp) 233, 233/1, 245, 245/1, 141/3, 251, 251/2, 251/5, 257, originários da Universidade de Torino, Itália, no controle da Murcha-de-Fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raças 1 e 2 (Fol). Os isolados patogênicos CA4A (Fol - 1), C-21A (Fol - 2), TO11 (Fol - 2) e TO245 (Fol - 2), bem como os isolados não patogênicos, foram cultivados em meio de cultura BD (batata-dextrose) durante 10 dias à 25°C, com agitação constante de 150rpm. Para se obter estruturas de resistência do fungo 500 ml de inóculo líquido de cada isolado de Fnp foram adicionados em 1000 g de talco e incubados durante 30 dias. Com o intuito de verificar a patogenicidade dos isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245, plântulas de tomateiro cv. Viradoro foram transplantadas para substrato infestado com inóculo líquido nas concentrações de Fol de 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 conídios mL⁻¹. Após 35 dias do transplante, as mudas foram avaliadas quanto a severidade da doença (Notas variando entre 1 a 6, onde: 1 planta sadia e 6 planta morta), a altura e as massas secas do sistema radicular e da parte aérea das plantas. As concentrações de 10^6 e 10^5 conídios mL⁻¹ dos isolados de Fol promoveram a maior severidade da doença, quando comparadas com a testemunha não inoculada. Após determinar a concentração do patógeno, verificou-se a atividade não patogênica dos isolados de Fnp em plantas de tomateiro onde, raízes foram imersas em uma suspensão de conídios dos

antagonistas na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} . As plantas foram cultivadas em vasos de 500 mL contendo substrato e após 35 dias de cultivo em casa de vegetação foram realizadas as avaliações. O desenvolvimento das plantas inoculadas com os isolados de Fnp não diferiu estatisticamente quando comparado com as plantas não inoculadas. Para verificar a atividade dos isolados de Fnp no controle da doença, métodos de introdução foram avaliados. O sistema radicular das plântulas de tomateiro foi lavado em água de torneira e imerso na suspensão de inóculo dos isolados, na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} , e as mudas de tomateiro foram transplantadas para substrato infestado com os isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245 de Fol na concentração de 10^5 conídios mL^{-1} . Após 35 dias do transplante foram realizadas as avaliações. Os isolados de Fnp foram eficientes em diminuir a severidade da doença, e também promoveram um maior desenvolvimento das plantas. Para verificar o efeito do tratamento de substrato com os isolados de Fnp, mudas de tomateiro foram transplantadas para substrato infestado previamente com os isolados de Fol e tratado com inóculo líquido e em talco dos isolados de Fnp. Após 35 dias do transplante foram realizadas as avaliações. Os isolados de Fnp foram eficientes em diminuir a severidade da doença. Para avaliar o efeito dos isolados de Fnp no tratamento de substrato de produção de mudas, estas foram produzidas em substrato tratado com inóculo em talco e líquido dos isolados de Fnp. Após 30 dias da emergência das plântulas, estas foram transplantadas para substrato tratado com os isolados de Fol. Após 35 dias do transplante foram realizadas as avaliações e os isolados de Fnp apresentaram atividade biocontroladora, sendo selecionado o isolado 251/2 para os estudos posteriores. Para selecionar a concentração adequada de introdução do antagonista, o sistema radicular de plântulas de tomateiro cv Viradoro foi imerso nas concentrações de 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios mL^{-1} do isolado 251/2 e as mudas transplantadas para substrato infestado com uma suspensão de inóculo contendo 10^3 , 10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} de Fol. Após 35 dias do transplante foram realizadas as avaliações. As plantas tratadas com a concentração de 10^7 conídios mL^{-1} do isolado 251/2 apresentaram as menores severidades da doença e um maior desenvolvimento das plantas, quando comparadas com as plantas cultivadas em substrato infestado com o patógeno. O isolado 251/2 de Fnp foi o mais eficiente na redução da severidade da doença, quando introduzido na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} . Após determinar a concentração do patógeno e o isolado mais eficiente, verificou-se qual a método mais promissor de introdução do isolado 251/2 de Fnp no controle da doença causada pelo

isolado TO245. Os métodos utilizados consistiram em: (1) Mudas de tomateiro produzidas em substrato autoclavado foram transplantadas para substrato de cultivo tratado com inóculo em talco do isolado 251/2 de Fnp; (2) Mudas de tomateiro produzidas em substrato tratado com inóculo em talco do isolado 251/2 de Fnp foram transplantadas para substrato tratado com o mesmo inóculo; (3) Mudas de tomateiro produzidas em substrato tratado com inóculo em talco do isolado 251/2 de Fnp foram transplantadas para substrato de cultivo; (4) Mudas de tomateiro produzidas em substrato autoclavado foram transplantadas para substrato de cultivo tratado com inóculo em líquido do isolado 251/2 de Fnp; (5) Mudas de tomateiro foram produzidas em substrato tratado com inóculo líquido do isolado 251/2 e transplantadas para substrato tratado com o mesmo inóculo; (6) Mudas de tomateiro foram produzidas em substrato tratado com inóculo líquido do isolado 251/2 de Fnp e transplantadas para substrato de cultivo. Após 35 dias do transplante das mudas foram realizadas as avaliações. O método mais eficiente de introdução do isolado 251/2 de Fnp foi o de produção das mudas de tomateiro cv. Viradoro em substrato tratado com o isolado antagonista e estas transplantadas para substrato de cultivo tratado com inóculo em talco do isolado antagonista. Esses resultados evidenciam a atividade antagônica dos isolados de *Fusarium oxysporum* não patogênico, na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2.

Effect of nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on reducing of the severity of Fusarium wilt of tomato. Botucatu, 2003. 55p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: JULIANO CESAR DA SILVA

Adviser: WAGNER BETTIOL

SUMMARY

The tomato is severely is affected by several diseases, among them may be detached the Fusarium wilt. The objective this present research was to evaluate the efficacy of the nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strains (Fnp) 233, 233/1, 245, 245/1, 141/3, 251, 251/2, 251/5, 257, from the University of Torino, Italy, on the control of Fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) races 1 and 2. The pathogenic strains CA4A race 1, C-21A race 2, TO11 race 2 and TO245 race 2, as well the nonpathogenic strains were growing in liquid media PD (potato-dextrose) during 10 days at 25°C, with constant agitation at 150 rpm. To obtain resistant structure of the fungi 500 mL of the liquid inoculum with each the Fnp strain were mixed in 1000 g of talc and incubated for 30 days. To evaluate the pathogenic activity of the strains: CA4A (Fol - 1), C-21A (Fol - 2), TO11 (Fol - 2) e TO245 (Fol - 2), tomato seedlings cv. Viradoro susceptible to race 2 of the pathogen were transplanted into the infested substrate with inoculum suspension in the concentrations of Fol 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 conidia mL⁻¹. After 35 days of the seedlings transplantation were evaluated the disease severity (Notes between 1 and 6, where: 1 health plant e 6 died plant), the height plants and the weight dry material of the root system and aerial part of the plants. The concentrations 10^6 e 10^5 conidia mL⁻¹ of the strains de Fol increased the higher severity, when compared with non inoculated plants. After determination the concentration of the pathogen, observed the nonpathogenic activity of the Fnp strains in tomato plants where, roots were dipped in a conidial suspension in the concentration of the 10^6 conidia mL⁻¹. The plants were growing into pots for the 500 mL capacity of the substrate and after 35 days of the growing in greenhouse were realized the evaluations. The plant

development inoculated with Fnp strains didn't differ statistically when compared with the non inoculated plants. To observe the activity of the Fnp strains on the disease control, introduction methods were evaluated. The root system were washed in water and dipped in a inoculum suspension of the strains, in the concentration de 10^6 conidia mL^{-1} and the tomato seedlings were transplanted into the infested substrate with the strains CA4A, C-21A, TO11 and TO245 of the Fol in a concentration of the 10^5 conidia mL^{-1} . The evaluations were realized after 35 days of the transplant. Tomato seedlings were transplanted into infested substrate with the Fol strains and treated with inoculum liquid of the Fnp strains. The evaluations were realized after 35 days of the transplant were realized the evaluations. The Fnp strains were efficient to control the disease and them increased de better development of the plants. To observe the effect of the treatment of the substrate with the Fnp strains, the tomato seedlings were transplanted into the treated substrate with talc inoculum of the Fnp strains. The evaluations were realized after 35 days of the transplant. The Fnp strains were efficient to control the disease. To evaluate the effect of the Fnp strains on the treatment of the substrate to produce seedlings, this was produced in treated substrate with talc and liquid inoculum of the Fnp strains. After 30 days of the emergency of the plants, were transplanted into infested substrate with Fol strains. After 35 days of the transplant were realized the evaluations and the isolates showed biocontrol activity, were selected the strains 251/2 to further research. To select the adequate concentration to introduce the antagonist, the tomato root system cv. Viradoro were dipped in the concentrations 10^4 , 10^5 , 10^6 and 10^7 conidia mL^{-1} of the 251/2 strain and the seedlings were transplanted into the substrate infested with a suspension of the inoculum in the concentrations 10^3 , 10^4 and 10^5 conidia mL^{-1} of the Fol. The evaluations were realized after 35 days after the transplant. The plants treated with 10^7 conidia mL^{-1} of the strain 251/2 showed the slowly severity of the disease and a high development of the plants, when compared with the plants grew infested substrate with the pathogen. The strain 251/2 was more efficient to control the disease, when introduced in the concentration 10^7 conidia mL^{-1} . After the determination of the concentration of the pathogen and the strain more efficient, observed what more promising method to introduce the strain 251/2 of the Fnp on the control of the disease, caused by strain TO245. The methods were: (1) Tomato seedlings produced in autoclaved substrate were transplanted into growing treated substrate with talc inoculum of the strain 251/2; (2) Tomato seedlings produced in treated

substrate with talc inoculum of the strain 251/2 de Fnp were transplanted into treated substrate with the same; (3) Tomato seedlings produced in treated substrate with talc inoculum of the strain 251/2 and transplanted into growing substrate; (4) Tomato seedlings were produced in autoclaved substrate were transplanted into the growing treated substrate with liquid inoculum of the strain 251/2; (5) Tomato seedlings were produced in treated substrate with liquid inoculum of the strain 251/2 and transplanted into the treated substrate with the same; (6) Tomato seedlings were produced in treated substrate with of the strain 251/2 were transplanted into the growing substrate. The evaluations were realized after 35 days of the transplant. The method more efficient to introduce the strain 251/2 were to produce of the tomato seedlings cv. Viradoro in treated substrate with the antagonist and transplanted into treated substrate with talc inoculum of the same strain. This results show the antagonistic activity of the *Fusarium oxysporum* nonpathogenic strains to control the Fusarium wilt of the tomato, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2.

Keywords: Biological control, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and nonpathogenic *Fusarium oxysporum*.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro está entre as hortaliças mais cultivadas no mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtores mundiais e o maior produtor da América Latina. No ano de 2002, a produção nacional de tomate foi de 3,5 milhões de toneladas (FAO, 2003). Na cultura do tomateiro ocorrem sérios problemas fitossanitários, dentre os quais se destaca a Murcha-de-Fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen. Esta doença foi identificada no Brasil em 1939 (Arruda, 1941).

A melhor forma de controlar a doença é a obtenção de variedades resistentes (Alabouvette, 1999). Entretanto, isolados mais patogênicos e outras raças do patógeno vem surgindo, bem como a resistência de plantas de tomateiro à doença pode ser quebrada por meio de infecções causadas por nematóides ou altas temperaturas. Plantas parasitadas por nematóides, principalmente do gênero *Meloidogyne* apresentaram uma maior severidade da doença (Moura et al., 2001).

O controle químico da Murcha-de-Fusário não é eficiente e a erradicação do patógeno com vapor ou fumigação é quase impossível em cultivos à campo (Alabouvette & Couteaudier, 1992). Assim, métodos alternativos ao controle químico vêm sendo pesquisados com maiores ênfases.

O controle biológico da Murcha-de-Fusário tem sido estudado em muitos países. Vários microrganismos antagônicos têm sido avaliados para o controle da Murcha-de-Fusário, mas os mais promissores são isolados não patogênicos de *Fusarium*

oxysporum (Rouxel et al., 1979; Ogawa & Komada, 1984); de *Fusarium solani* (Rouxel et al., 1979; Amir, 1991; Valdebenito-Sanhueza & Sonego, 2001) e de *Fusarium moniliforme* (Alabouvette & Couteaudier, 1992).

A espécie saprófita de *F. oxysporum* tem apresentado eficiência na redução da incidência da Murcha-de-Fusário nas culturas do ciclamem, gerbera, manjerição, aspargo, berinjela, cravo, melancia, tomate, grão de bico, pepino e pimenta do reino (Tramier et al., 1983; Garibaldi et al., 1986, 1987, 1988, 1990a; Garibaldi, 1988; Paulitz et al., 1987; Park et al., 1988; Lemanceau & Alabouvette, 1991; Mandeel & Baker, 1991; Postma & Rattink, 1992; Yamagushi et al., 1992; Lemanceau et al., 1993; Larkin et al., 1993a, 1993b, 1996; Minuto et al., 1995a, 1995b; De Cal et al., 1995; Hervás et al., 1995; Fuchs et al., 1997, 1999; Larkin & Fravel, 1998, 1999; Mao et al., 1998; Duijff et al., 1998; He et al., 2001, 2002; Chu et al., 2001; Reid et al., 2002; Pharand et al., 2002; Fravel & Larkin, 2002).

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a eficiência dos isolados 233, 233/1, 141/3, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 257 de *F. oxysporum* não patogênicos na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro, causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raças 1 e 2, na cultivar de tomateiro Viradoro, resistente a raça 1, mas susceptível a raça 2 do patógeno.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Raças e sintomatologia da Murcha-de-Fusário

A Murcha-de-Fusário, causada pelo fungo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ocorre na maioria das áreas cultivadas no mundo. Atualmente existem três raças descritas deste fungo, sendo que a raça 1 é a mais comum e ocorre em quase todos os países produtores de tomate, enquanto as raças 2 e 3 ocorrem em áreas mais restritas (Andrade & Michereff, 2000). A espécie *F. oxysporum* é responsável por causar murchas vasculares apresentando um alto grau de especificidade por hospedeiro, o que conduziu a definição de *formae speciales* e raças, ou seja, um isolado está apto para infectar uma espécie de planta ou uma cultivar de uma espécie, respectivamente (Armstrong & Armstrong, 1981).

Gederman & Finley (1951) definiram a espécie *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 como não patogênica às plantas com o fator de resistência obtido de plantas de tomateiro da espécie *Lycopersicon pimpinellifolium* e a espécie *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2 como patogênica a essas plantas.

O patógeno penetra pelas raízes e coloniza o sistema vascular em plantas susceptíveis, mas permanece limitada na região basal de plantas resistentes (Beckman, 1987). Isto indica que plantas de tomateiro resistentes são eficientes em impedir a colonização do patógeno por meio do bloqueio do transporte de conídios, depósito de calose, tiloses, infusão de compostos fenólicos e síntese de fitoalexinas (Beckman, 1987).

No Brasil, a raça 1 é a mais prevalecente e ocorre em vários Estados produtores de tomate (Neder et al., 1964; Tokeshi, 1966; Kurozawa & Tokeshi, 1966; Almeida, 1971; Minussi, 1972; Matsuoka & Chaves, 1973; Caratelli, 1978; Rodrigues & Juliatti, 1990). A raça 2 vem aumentando de importância e já foi encontrada em São Paulo (Neder et al., 1964; Tokeshi, 1966; Kurozawa & Pavan, 1982), em Minas Gerais (Matsuoka & Chaves, 1973), em Pernambuco (Pereira et al., 1993), no Maranhão (Caratelli, 1978), na Paraíba (Caratelli, 1978) e no Rio de Janeiro (Ribeiro et al., 1999). A raça 3 ainda não foi relatada no Brasil (Santos et al., 1993).

O fungo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* permanece por um grande período no solo e em restos de cultura, devido a presença de clamidósporos, causando danos principalmente nos períodos quentes do ano. A temperatura ótima de desenvolvimento é de 28°C, preferindo particularmente solos arenosos e ácidos. As plantas apresentam predisposição a doença quando cultivadas em solos deficientes em nitrogênio, fósforo e cálcio. As cultivares resistentes a doença manifestam sintomas durante ataques severos de nematóides, principalmente a espécie *Meloidogyne* spp. (Blancard, 1996; Lopes et al., 2000; Moura et al., 2001).

A doença pode se manifestar em todos os estádios de desenvolvimento da planta, sendo mais comum em plantas em início de florescimento e frutificação. Em sementeiras, as mudas apresentam as folhas com as nervuras clareadas e com os pecíolos curvados. Em condições de alta umidade e baixas temperaturas o fungo pode causar tombamento em plântulas. Os sintomas nas folhas manifestam-se por um amarelecimento intenso, nas mais velhas, progredindo para as mais novas. Esse tipo de sintoma pode inicialmente ocorrer em um lado da planta ou metade da folha. Logo após o amarelecimento, ocasionalmente pode ocorrer a formação de raízes adventícias. Os vasos lenhosos das folhas e do caule ficam com coloração parda de aparência seca, entretanto a medula das plantas não sofre alteração da sua cor. As raízes, após um período inicial de paralisação do crescimento, também podem apodrecer (Jones, 1991; Lopes et al., 1994; Kurozawa & Pavan, 1997; Vale et al., 2000; Lopes et al., 2000).

2.2 Etiologia

A Murcha-de-Fusário do tomateiro foi considerada inicialmente causada por *F. oxysporum* Achl. subsp. *lycopersici* Sacc. Anos após ocorreu uma nova classificação do fungo, sendo denominado *F. lycopersici* Sacc. Em 1935, foi novamente classificado recebendo a denominação de *F. bulbigenum* (Cke. & Mass.) *lycopersici* (Brushi) Wr. & Reinking. E em 1940 o nome do patógeno foi reclassificado e fixado como *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen (Jones, 1991; Vale et al., 2000).

F. oxysporum f. sp. *lycopersici* é um fungo mitospórico, que apresenta micélio septado, pouco colorido inicialmente, mas com o tempo torna-se amarelo pálido e sob determinadas condições adquire a cor rosa pálida ou um pouco de coloração purpúrea. Produz três tipos de esporos assexuais: os microconídios, os macroconídios e os clamidósporos. Os microconídios são formados em fiáldes simples, lateralmente e usualmente são os mais freqüentes e os mais abundantes esporos produzidos pelo fungo, sob quaisquer condições. São conídios hialinos, ovóides a elipsóides, com uma célula, medindo aproximadamente 5-12 x 2,2-3,5 µm (Jones, 1991; Vale et al., 2000).

Os macroconídios esparsos a abundantes são formados em esporodóquios de paredes finas, com 3 a 5 septos, medindo 27-46 x 3-5 µm (três septos) e 35-60 x 3-5 µm (cinco septos). Os macroconídios com três septos são mais comuns. Os conídios são hialinos, alantóides, curvos para ambos os lados. Também podem formar esporos de resistência denominados clamidósporos, contendo uma ou duas células, de paredes espessas, grossas e resistentes resultantes da transformação das hifas, medindo de 7-11µm. Os clamidósporos podem se formar na extremidade das hifas ou em células intercalares das hifas (Jones, 1991; Vale et al., 2000).

2.3 Variedades de tomateiro resistentes à Murcha-de-Fusário

As plantas de tomateiro resistentes ao *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1, apresentam resistência a doença governada por um gene e este gene é designado gene I. A partir da identificação do gene de resistência, melhoristas começaram a desenvolver

variedades de tomateiro resistentes à doença (Beckman, 1987). Jones & Woltz (1981) verificaram que as plantas de tomateiro que apresentavam o gene de resistência I, permitiu o cultivo destas variedades por aproximadamente 20 anos no Estado da Flórida, até que a raça 2 tornou-se um sério problema.

Alexander & Hoover (1953) e Alexander (1959) identificaram fontes de resistência à espécie *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, destacando as espécies *L. peruvianum* e *L. glandulosum* como resistentes as raças 1 e 2 do patógeno, enquanto que algumas introduções de *L. pimpinellifolium* e os cruzamentos desta com a espécie *L. esculentum*, como resistentes à raça 1 do patógeno. Com a identificação e a introdução do gene de resistência I2, a doença causada pela raça 2 do patógeno deixou de apresentar importância. Entretanto a raça 3 do patógeno tornou-se um sério problema na Austrália e na Flórida (Caratelli, 1978).

Atualmente existem diversas cultivares e híbridos de tomateiro resistentes à Murcha-de-Fusário que são comercializadas mundialmente. Estas cultivares e híbridos apresentam geralmente resistência às raças 1 e 2 do patógeno.

2.4 Solos supressivos à Murcha-de-Fusário

A existência de solos que naturalmente limitam a incidência da Murcha-de-Fusário vem sendo estudada desde o final do século XIX e tem estimulado pesquisas no controle biológico da Murcha-de-Fusário durante os últimos 40 anos. Durante a década de 60, os estudos demonstraram o papel dos fatores abióticos, principalmente a presença de argila no solo, em relação à redução da incidência da doença em solos de vida longa na América Central (Stozky & Martin, 1963). Relatos subsequentes indicaram que fatores biológicos estavam envolvidos no mecanismo de supressividade do solo (Smith & Snyder, 1972, 1973).

O envolvimento da microbiota saprofítica nos mecanismos de supressividade do solo sugere que seja possível transformar um solo conducente em solo supressivo por meio da manipulação da população microbiana. Duas formas são sugeridas para transformar um solo conducente em supressivo: a primeira consiste em induzir a supressividade natural que existe em todos os solos; e a segunda consiste no isolamento e

multiplicação de microrganismos antagônicos e introduzi-los no solo em que se objetiva induzir a supressividade à Murcha-de-Fusário (Alabouvette et al., 1998).

O cultivo de uma planta influencia a atividade microbiana do solo podendo assim determinar mudanças na supressividade do solo. Diversos estudos têm demonstrado claramente que não somente a densidade da população microbiana, mas também a estrutura pode ser modificada na rizosfera de diversas espécies de plantas cultivadas, quando comparada sua estrutura em solo não cultivado (Hendrix et al., 1995; Lemanceau, et al., 1995; Abadie et al., 1998). A indução da supressividade do solo à Murcha-de-Fusário tem sido obtida por meio de cultivos sucessivos de *Pueraria javanica* e *Calopogonium coeruleum*, devido às mudanças na população microbiana do solo (Abadie et al., 1998).

A manipulação da rizosfera é uma maneira de beneficiar os microrganismos antagônicos e/ou substâncias elicitoras que favoreçam a proteção da raiz de efeitos deletérios promovidos por fitopatógenos (Weller, 1988). Solos naturalmente supressivos à Murcha-de-Fusário (Alabouvette et al., 1985), ao tombamento causado por *Pythium* (Lumsden et al., 1987), *Thielaviopsis basicola* e *Gaeumannomyces graminis* (Stutz et al., 1986; Weller, 1988) têm sido relatados em diferentes regiões do mundo.

A supressividade do solo à Murcha-de-Fusário pode ocorrer naturalmente, e tem sido atribuída às propriedades físicas e químicas do solo (Amir & Alabouvette, 1993; Höper & Alabouvette, 1996), à microbiota do solo (Scher & Baker, 1980) ou ambos (Cook & Baker, 1983). Entre os microrganismos habitantes do solo, as espécies *Fusarium* spp. não patogênicas e *Pseudomanas* fluorescentes (Rouxel et al., 1979; Kloepper et al., 1980; Scher & Baker, 1980, 1982; Schroth et al., 1982; Cook & Baker, 1983; Alabouvette, 1986; Larkin et al., 1993b; Larkin & Fravel, 1998) são as mais importantes no controle da Murcha-de-Fusário. Alabouvette et al. (1996) relataram que a supressividade à Murcha-de-Fusário é devida provavelmente à supressividade geral que consiste na atividade da biomassa total do solo e a específica que consiste na atividade da população de *Fusarium* spp. não patogênico, destacando-se a espécie *F. oxysporum*.

Estudos da supressividade do solo à Murcha-de-Fusário, na região de Chateaufrenard, França, demonstraram que a microbiota saprofítica foi a responsável pelo fenômeno. De fato, a supressividade foi destruída por tratamentos que inviabilizaram a maioria dos microrganismos e recuperada após a introdução da microbiota em um solo

previamente desinfestado (Louvet et al., 1976). A natureza microbiana da supressividade tem sido descrita em todos os solos que apresentam supressividade à Murcha-de-Fusário (Amir & Alabouvette, 1993; Scher & Baker, 1980; Tamietti & Alabouvette, 1986).

Larkin et al. (1993a) verificaram que quando um solo conducente à Murcha-de-Fusário foi cultivado com a cultivar de melancia Florida Giant, a população do patógeno aumentou quando comparada com a população de saprófitas. Mas quando foi cultivada sucessivamente com a cultivar de melancia Crimson Sweet, a população do patógeno não aumentou, porém ocorreu aumento da população de saprófita, isto se deve a seleção que a cultivar promove sobre a população de microrganismos do solo (Hopkins et al. 1987; Sneh et al., 1984).

Os antagonistas devem estar ecologicamente adaptados para sobreviverem nas condições particulares do agroecossistema. Além disso, os antagonistas devem estar presentes em densidade populacional adequada, para ser capaz de interagir efetivamente com o patógeno ou com o hospedeiro, promovendo um controle satisfatório da doença. O conhecimento da relação da densidade de inóculo entre patógeno e antagonista, pode determinar o nível populacional dos antagonistas que serão requeridos para obter um controle satisfatório da doença, tão bem quanto ao nível populacional do patógeno em que o antagonista será eficiente (Larkin & Fravel, 1999).

2.5 Controle biológico da Murcha-de-Fusario

O controle biológico da Murcha-de-Fusário tem sido realizado por meio da introdução de isolados de *Fusarium* spp. não patogênicos em solo ou em áreas infestadas (Alabouvette et al., 1984; Baker et al., 1978; Biles & Martin, 1989; Garibaldi et al., 1987; Ogawa & Komada, 1984; Rouxel et al., 1979; Schneider, 1984). Algumas hipóteses foram propostas para explicar os mecanismos que estão envolvidos na supressão da doença. A competição saprofítica por nutrientes no solo e na rizosfera foi verificada por meio da colonização das raízes, da inibição da germinação de clamidósporos e da dinâmica populacional de *Fusarium* em solo supressivo (Alabouvette, 1986, Mandeel & Baker, 1991; Alabouvette & Couteaudier, 1992; Larkin & Fravel, 1999; Freeman et al., 2002). A redução da incidência da Murcha-de-Fusario induzida por isolados de *Fusarium* spp. não patogênicos

pode estar diretamente relacionada com a competição por sítios de infecção na superfície da raiz (Schneider, 1984; Tamietti & Pramotton, 1990; Mandeel & Baker, 1991; Freeman et al., 2002), por indução de resistência em plantas obtidas por meio de espécies de *Fusarium* não patogênicas (Baker et al., 1978; Biles & Martin, 1989; Ishiba et al., 1981; Ogawa & Komada, 1984; Wymore & Baker, 1982; Mandeel & Baker, 1991; Larkin & Fravel, 1998; Fuchs et al., 1997, 1999; Larkin & Fravel, 1999; Freeman et al., 2002) e por competição por fontes de carbono (Alabouvette et al., 1993; Couteaudier, 1992; Mandeel & Baker, 1991; Larkin & Fravel, 1999). Couteaudier (1992) e Alabouvette et al. (1993) verificaram que a competição é o principal mecanismo de ação do isolado Fo47 de *F. oxysporum* não patogênico. Entretanto, Larkin & Fravel (1999) verificaram que este isolado atua também na inibição da germinação de clamidósporos e indução de resistência.

Os isolados de *F. oxysporum* não patogênicos que apresentam a competição como principal modo de ação requerem alta população para competir eficientemente com o patógeno no solo (Alabouvette & Couteaudier, 1992; Alabouvette et al., 1993, Larkin & Fravel, 1999). A indução de resistência tem resultado na resistência geral para múltiplos patógenos, incluindo fungos veiculados pelo solo, fungos de parte aérea, bactérias e vírus (Kloepper et al., 1996). Tamietti et al. (1993) demonstraram indução de resistência por meio do aumento da atividade de enzimas oxidativas e da glucosidade nas raízes, caule e folhas de plantas de tomate cujas raízes foram tratadas com isolados de *F. oxysporum* não patogênicos.

Diversos isolados de *F. oxysporum* não patogênicos tem sido relatados como indutores da supressividade à Murcha-de-Fusário em diferentes culturas. O isolado Fo47, originário de solo supressivo na França tem sido intensivamente estudado como um potencial agente de biocontrole da Murcha – de - Fusário para diversas culturas de flores e hortaliças (Alabouvette & Couteaudier, 1992; Fuchs et al., 1997; Alabouvette et al., 1998; Fuchs et al., 1999). Os isolados CS-20 e CS-1 de *F. oxysporum* não patogênicos suprimiram a Murcha-de-Fusário da melancia por meio de indução de resistência (Larkin & Fravel, 1999). Minuto et al. (1997) verificaram que o isolado 251/2 de *F. oxysporum* não patogênico foi o mais eficiente no controle da doença na cultura do manjeriço, quando formulado em talco. He et al. (2002) verificaram que exsudatos de raízes inoculadas previamente com o isolado CWB318 de *F. oxysporum* não patogênico reduziram significativamente a germinação de

esporos e o crescimento do tubo germinativo do *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*. Quando os isolados C5 ou C14 de *F. oxysporum* não patogênicos foram introduzidos no solo ocorreu uma diminuição da incidência da murcha do pepino causada por *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Mandee & Baker, 1991). Quando a formulação do isolado MT0062 de *F. oxysporum* não patogênico foi introduzida no pré-plantio e no momento do transplante este isolado foi efetivo no controle das Murchas de Fusário e de Verticílio do tomateiro e da berinjela (Yamagushi & Sano, 1992). Os isolados 251/2 e FI-11 de *F. oxysporum* não patogênicos e os isolados TF4 e TF4RB de *F. moniliforme* não patogênicos foram efetivos no controle da incidência da Murcha-de-Fusário do cravo (Garibaldi et al., 1990a). Garibaldi et al. (1990b) verificaram a colonização das raízes de plantas de melão e rabanete pelo isolado 233 de *F. oxysporum* não patogênico, quando as plantas foram cultivadas em solo tratado com Benomyl. Os isolados 245, 233, 251/1, 251/2, 251/3, 251/4, 251/5, 251/6, 233/1, 233/2, 245/1, 141/3, 245/10, 245/11 de *F. oxysporum* não patogênicos foram eficientes no controle da Murcha-de-Fusário do cravo (Garibaldi et al., 1992), do ciclamem (Garibaldi & Minuto, 1993; Minuto et al., 1995b) e do manjerição (Minuto et al., 1995a). Hervás et al. (1995) verificaram que os isolados FO9009 e FO90105 de *F. oxysporum* não patogênicos controlaram a Murcha-de-Fusário do grão de bico causada por *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* raça 5.

Biles & Martyn (1989) e Mandee & Baker (1991) verificaram que o isolado C14 de *F. oxysporum* não patogênico inoculado previamente em plantas de pepino, promoveu redução no número de lesões causadas por *Colletotrichum lagenarium*. Benhamou et al. (2002) verificaram que o isolado Fo47 de *F. oxysporum* não patogênico induziu resistência à infecção causada por *Pythium ultimum* em pepino, por meio da redução da viabilidade do patógeno, formação de barreiras físicas e oclusão dos espaços intercelulares.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, da Embrapa Meio Ambiente, localizado no Município de Jaguariúna, Estado de São Paulo.

3.1 Obtenção dos isolados

O isolamento C21A de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2 (Fol – 2) e o isolamento CA4A de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 (Fol – 1) foram obtidos de plantas de tomateiro que apresentavam os sintomas da doença e fornecidos pelo Dr. Sami Jorge Michereff, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os isolamentos TO11 e TO245 de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2 (Fol - 2) foram fornecidos pelo Dr. Romulo Fujito Kobori, da Empresa Sakata Seed Sudamérica.

Os isolamentos 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de *F. oxysporum* não patogênicos (Fnp), utilizados no presente estudo, foram obtidos do sistema radicular de plantas de cravo cultivadas em solos supressivos pelo Dr. Angelo Garibaldi, da Universidade de Torino, Itália e foram introduzidos pela Embrapa Meio Ambiente, por meio do Processo MA nº 21052.011767/99-04.

3.2 Preparo do substrato para a produção e cultivo de mudas de tomateiro

As mudas de tomateiro foram produzidas em substrato Multihort®, sendo semeadas em bandejas de isopor (35mm x 35mm) e cultivadas durante 30 dias em condições de casa de vegetação.

Para o transplante das mudas foram utilizados vasos de 500 mL, contendo substrato composto de solo e esterco bovino na proporção de 3:1 (v/v). O solo de classificação Latossolo amarelo foi coletado de uma área de mata da fazenda experimental da Embrapa Meio Ambiente, apresentado a seguinte composição química (5 mg dm³ de P; 1,5 mmolc dm³ de K; 7 mmolc dm³ de Ca; 95 mmolc dm³ de H+Al; 9,5 mmolc dm³ de S.B; 104,5 mmolc dm³ de CTC; 9% de V). Para cada quilo de substrato preparado adicionou-se previamente 0,2 g de cloreto de potássio, 0,5 g de super fosfato simples e 6 g de calcáreo dolomítico.

3.3 Cultivar de tomate

As sementes de tomate cultivar Viradoro utilizadas nos estudos foram obtidas no Centro Nacional de Pesquisa de Hortalças, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

A cultivar Viradoro apresenta hábito de crescimento determinado com excelente cobertura dos frutos. O florescimento inicia-se por volta de 40 a 50 dias e a colheita ocorre entre 100 e 120 dias após a emergência. Apresenta resistência ao vira-cabeça do tomateiro, a mancha - de - Estenfílio (*Stemphylium solani*), a Murcha - de - Fusário (Fol - 1) e ao nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) www.cnph.embrapa.br/cultivares/viradoro.htm, Acesso 26/10/2002.

3.4 Teste de patogenicidade dos isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 1 e 2

O substrato foi infestado misturando-se 50mL do inóculo dos isolados de Fol -1 e 2 nas concentrações 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷ de conídios mL⁻¹ em 450 mL de substrato,

obtendo-se substratos infestados nas concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 conídios mL^{-1} , para cada isolado de Fol. Após dez dias de incubação plântulas de tomateiro foram transplantadas para o substrato infestado com os isolados de Fol e cultivadas em casa de vegetação. Como testemunha foi utilizado substrato não infestado para o transplante de mudas, onde o sistema radicular das plântulas foi lavado em água de torneira antes do transplante. As avaliações foram realizadas 35 dias após o transplante das mudas, conforme o descrito no item 3.5.

Para o preparo do inóculo dos isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245 de Fol, discos de 5mm de diâmetro, contendo estruturas do fungo cultivado em meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar) durante 7 dias, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, foram transferidos para Erlenmeyer de 1000mL contendo 500 mL de meio de cultura BD (batata-dextrose) e mantido à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com agitação constante de 150rpm. Após 10 dias o inóculo foi filtrado em dupla camada de gaze esterilizada e determinada a concentração da suspensão com o auxílio de um hemocitômetro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo cada repetição composto de um vaso com uma planta. As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância, transformadas para $\sqrt{x + 0,5}$ e comparadas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade, utilizando o programa SAS System versão 8 (SAS Institute Inc., 1999).

3.5 Variáveis avaliadas

A avaliação da doença foi realizada após 35 dias do transplante das mudas para o substrato previamente infestado com os isolados de Fol. As características estudadas foram: severidade da doença; altura e massas secas do sistema radicular e da parte aérea das plantas de tomateiro.

3.5.1 Severidade da doença

As hastes de plantas de tomateiro foram cortadas longitudinalmente em duas partes iguais com o objetivo de se verificar o escurecimento vascular desencadeado pelo patógeno. Em seguida foi realizada a avaliação da severidade da doença de acordo com a metodologia proposta por Tokeshi & Galli (1966) com algumas modificações, sendo as notas:

- 1 - Planta sadia sem sintomas externos ou internos observáveis no caule, cortado à altura do primeiro internódio logo acima dos cotilédones;
- 2 - Planta com vasos escurecidos na região do primeiro internódio sem outros sintomas visíveis;
- 3 - Planta com vasos escurecidos até a altura da primeira folha, com pelo menos um folíolo com amarelecimento;
- 4 - Planta com vasos escurecidos até a metade do comprimento do caule, com duas ou mais folhas com amarelecimento;
- 5 - Planta com vasos escurecidos até próximo ao ponteiro, apresentando a maioria das folhas murchas, com exceção do ponteiro;
- 6 - Planta morta ou com vasos escurecidos e folhas murchas até o ponteiro.

3.5.2 Altura da plantas

A altura das plantas de tomateiro foi determinada com o auxílio de uma régua graduada, a partir da superfície do substrato contido no vaso até a gema apical da planta, os resultados foram expressos em centímetros.

3.5.3 Massas secas do sistema radicular e da parte aérea de plantas de tomateiro

Inicialmente as plantas foram retiradas cuidadosamente dos vasos, em seguida, as raízes foram lavadas com jato de água com o objetivo de retirar as partículas de solo, mas sem danificar as radículas. Após a lavagem, o sistema radicular foi cortado na região do colo das plantas de tomateiro, com o auxílio de uma tesoura. O sistema radicular e a parte aérea das plantas de tomateiro foram acondicionadas em sacos de papel distintos e secas em estufa de circulação e renovação modelo MA035 (Marconi) à temperatura de $65 \pm 3^\circ\text{C}$ até obter peso constante. Após a secagem foram determinadas as massas secas do sistema radicular e da parte aérea por meio de pesagem em balança de precisão modelo E0D120 (OHAUS®).

3.6 Efeito dos isolados de Fnp em plantas de tomateiro

Para verificar a atividade dos isolados 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de Fnp raízes de plântulas de tomateiro foram imersas durante cinco minutos em uma suspensão de conídios de cada isolado dos antagonistas, na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} . As plântulas foram cultivadas em vasos de 500 mL contendo substrato (item 3.2) e após 35 dias de cultivo em casa de vegetação foram realizadas as avaliações da severidade da doença, da altura das plantas e das massas secas do sistema radicular e da parte aérea das plantas de tomateiro, conforme descrito no item 3.5.

Os tratamentos consistiram de uma testemunha não inoculada, uma testemunha tratada com o meio de cultura BD autoclavado e os isolados de Fnp. Para o tratamento testemunha, o sistema radicular de plântulas de tomateiro foi lavado em água de torneira, sendo logo em seguida transplantada para o substrato de cultivo. Para as plantas tratadas com meio de cultura BD, o sistema radicular foi lavado em água de torneira e posteriormente imerso em meio de cultura BD durante cinco minutos e transplantada logo após para substrato (item 3.2). As avaliações foram realizadas conforme descrito no item 3.5. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto de dez repetições, sendo cultivada uma planta por vaso e cada planta constituiu uma repetição, conforme descrito no item 3.4.

3.7 Efeito dos isolados de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro

Para avaliar a atividade dos isolados de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro, métodos de introdução dos antagonistas foram estudados, além de selecionar o isolado mais eficiente em diminuir a severidade da doença.

3.7.1 Tratamento do sistema radicular de plântulas de tomateiro com inóculo produzido em meio líquido de Fnp

Para o preparo do inóculo líquido dos isolados Fnp, discos de 5 mm de diâmetro de BDA, contendo estruturas fúngicas foram transferidos para Erlenmeyers, com

meio de cultura BD e mantidos à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com agitação constante de 150rpm. Após 10 dias de incubação o inóculo foi filtrado em dupla camada de gaze esterilizada e determinou-se a concentração do inóculo com o auxílio de um hemocitômetro.

O sistema radicular das plântulas de tomateiro foi lavado em água de torneira para se retirar o excesso de substrato e imerso na suspensão de inóculo dos isolados 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de Fnp, na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} . As mudas de tomateiro foram transplantadas para substrato previamente infestado com os isolados de Fol - 2 (isolados C-21A, TO11 e TO245). Para se infestar o substrato 50mL do inóculo de Fol na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} foi vertida em 450mL de substrato, obtendo-se um a infestação de 10^5 conídios mL^{-1} de substrato. A infestação foi realizada 10 dias antes do transplante das mudas. Após 35 dias foram avaliados a severidade, a altura e as massas secas do sistema radicular e da parte aérea de plantas de tomateiro (item 3.5). O delineamento experimental e as análises estatísticas foram semelhantes ao descrito no item 3.4.

3.7.2 Tratamento do substrato para o cultivo de plantas de tomateiro com inóculo produzido em talco de Fnp.

Para o preparo do inóculo dos isolados de Fnp em talco, 500mL de suspensão do inóculo produzido em meio líquido, conforme descrito anteriormente foram vertidos em 1000g de talco neutro (Chemico Industria e Comércio), incubados durante 10 dias à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e seco durante 30 dias à temperatura ambiente (De Cal et al., 1995). Após a secagem foram determinadas as unidades formadoras de colônias (UFC) do inóculo, por meio do método de diluição em série, plaqueando-se as diluições 10^{-3} e 10^{-4} em meio de cultura semi-seletivo para *Fusarium* spp. (Nash & Snyder, 1962).

Após 7 dias da infestação do substrato com os isolados CA4A, C-21A TO11 e TO245 de Fol - 1 e 2 foram adicionados 50g de inóculo em talco dos isolados 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de Fnp em 450mL^{-1} de substrato, resultando na concentração de 10^6 UFC mL^{-1} de substrato dos antagonistas. Após 3 dias do tratamento do substrato com inóculo dos isolados de Fnp, as mudas de tomateiro foram transplantadas para o

substrato. As avaliações foram conforme descrito no item 3.5. O delineamento experimental e as análises estatísticas foram semelhantes ao descrito no item 3.4.

3.7.3 Tratamento do substrato para produção de mudas com inóculo dos isolados de Fnp

Métodos de introdução dos antagonistas no substrato para a produção de mudas foram estudados para avaliar a atividade dos isolados de Fnp na redução da severidade da doença.

3.7.3.1 Tratamento do substrato para produção de mudas com inóculo produzido em meio líquido de Fnp

Para se tratar o substrato para produção de mudas de tomateiro, 50mL de inóculo líquido dos isolados de Fnp na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} foi adicionado em 450mL do substrato Multihort® previamente autoclavado, obtendo-se a concentração de 10^6 UFC g^{-1} de substrato. Dez dias após o tratamento do substrato foi realizada a semeadura de tomateiro em bandejas de isopor. Após 30 dias da emergência das plântulas estas foram transplantadas para substrato previamente infestado com os isolados de Fol (item 3.4). Aos 35 dias após o transplante foram realizadas as avaliações conforme descrito no item 3.5. O delineamento experimental e as análises estatísticas foram semelhantes ao descrito no item 3.4.

3.7.3.2 Tratamento do substrato para produção de mudas com inóculo produzido em talco de Fnp

Para se tratar o substrato para produção de mudas de tomateiro, 50g do inóculo em talco na concentração de 10^7 UFC g^{-1} dos isolados Fnp foram incorporados em um substrato Multihort® previamente autoclavado à 121°C , 1atm, durante 1 hora, por dois dias consecutivos, obtendo-se a concentração de 10^6 UFC g^{-1} de substrato. Dez dias após o tratamento do substrato foi realizada a semeadura de tomateiro em bandejas de isopor,

conforme descrito no item 3.3. Após 30 dias da emergência das plântulas, estas foram transplantadas para substrato previamente infestado com os isolados de Fol (item 3.4). As avaliações foram semelhantes ao descrito no item 3.5. O delineamento experimental e as análises estatísticas foram semelhantes ao descrito no item 3.4.

3.8 Efeito de concentrações do isolado 251/2 de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro

Os isolados de Fnp avaliados quanto a eficiência na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro apresentaram atividade de biocontrole, sendo selecionado o isolado 251/2 de Fnp para os estudos com diferentes concentrações do inóculo.

Para verificar a melhor concentração do isolado 251/2 de Fnp para a redução da severidade da doença causada pelo isolado TO245 de Fol - 2, o sistema radicular de plântulas de tomateiro cv. Viradoro produzidas em substrato sem infestação com o patógeno foi imerso nas concentrações 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios mL^{-1} durante 5 minutos, e as mudas transplantadas para substrato previamente infestado com o isolado TO245 de Fol - 2 raça 2 nas concentrações 10^3 , 10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} . Além desses tratamentos foram acrescentados uma testemunha sem a presença do isolado 251/2 de Fnp e um tratamento infestado com as diferentes concentrações de inóculo do isolado TO245. Após 35 dias do transplante foram realizadas as avaliações, conforme descrito no item 3.5. O delineamento experimental e as análises estatísticas foram semelhantes ao descrito no item 3.4.

3.9 Efeito de métodos de introdução do isolado 251/2 de Fnp na supressão da Murcha-de-Fusário do tomateiro

Para se verificar qual a método mais promissor de introdução do isolado 251/2 de Fnp na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} na redução da severidade da Murcha - de - Fusário causada pelos isolados C21A, TO11 e TO245 de Fol - 2, plântulas de tomateiro cv. Viradoro foram cultivadas em substrato infestado com a concentração de 10^5 conídios mL^{-1} dos isolados de Fol - 2. Os métodos de introdução do antagonista foram:

(a) Mudanças de tomateiro foram produzidas em substrato autoclavado e 30 dias após a emergência foram transplantadas para substrato de cultivo tratado previamente com inóculo produzido em talco do isolado 251/2 de Fnp na concentração de 10^6 UFC mL⁻¹ (item 3.7.3.2);

(b) Mudanças de tomateiro foram produzidas em substrato tratado com inóculo do isolado 251/2 de Fnp produzido em talco (item 3.7.3.2) na concentração de 10^6 UFC mL⁻¹ e transplantadas aos 30 dias após a emergência, para substrato tratado previamente com inóculo também produzido em talco na concentração de 10^6 UFC mL⁻¹ (item 3.7.2);

(c) Mudanças de tomateiro foram produzidas em substrato tratado com inóculo produzido em talco do isolado 251/2 de Fnp na concentração de 10^6 UFC mL⁻¹ (3.7.2) e transplantadas aos 30 dias após a emergência para substrato de cultivo;

(d) Mudanças de tomateiro foram produzidas em substrato autoclavado e aos 30 dias após a emergência as mudas foram transplantadas para substrato de cultivo tratado previamente com inóculo produzido em meio líquido do isolado 251/2 de Fnp na concentração de 10^6 conídios mL⁻¹;

(e) Mudanças de tomateiro foram produzidas em substrato tratado com inóculo produzido em meio líquido do isolado 251/2 na concentração de 10^6 conídios mL⁻¹ (item 3.7.3.1) e aos 30 dias após a emergência as mudas foram transplantadas para substrato tratado previamente com inóculo produzido em meio líquido do isolado 251/2 de Fnp na concentração de 10^6 conídios mL⁻¹;

(f) Mudanças de tomateiro foram produzidas em substrato tratado com inóculo produzido em meio líquido do isolado 251/2 de Fnp na concentração de 10^6 conídios mL⁻¹ (item 3.7.3.1) e aos 30 dias após a emergência, as mudas foram transplantadas para substrato de cultivo.

Após 35 dias do transplante das mudas de tomateiro para o substrato de cultivo foram realizadas as avaliações, conforme descrito no item 3.5. O delineamento experimental e as análises estatísticas foram semelhantes ao descrito no item 3.4.

4 RESULTADOS

4.1 Teste de patogenicidade dos isolados CA4A, C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 1 e 2

A cultivar Viradoro, resistente ao patógeno Fol - 1, quando cultivada em substrato infestado com diferentes concentrações do isolado CA4A de Fol - 1 apresentaram as notas médias de severidade de 2,66 e de 1,00 para a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} de Fol - 1 e para as plantas cultivadas em substrato não infestado, respectivamente (Tabela 1). Os valores das alturas e das massas secas do sistema radicular das plantas cultivadas em substrato infestado com as concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 conídios mL^{-1} de Fol - 1 não diferiram estatisticamente entre si. Entretanto, diferiram estatisticamente quando comparados com os valores das plantas cultivadas em substrato não infestado. Os valores da massa seca da parte aérea das plantas cultivadas em substrato infestado com o patógeno não diferiram estatisticamente, quando comparados com os valores das plantas cultivadas em substrato sem infestação.

As plantas de tomateiro cultivadas em substrato infestado com diferentes concentrações do isolado C-21A de Fol - 2, apresentaram os valores da severidade da doença de 4,16 e 3,66 para as concentrações 10^6 e 10^5 conídios mL^{-1} , respectivamente, diferindo estatisticamente das plantas sadias (Tabela 1). O valor de 30,66cm da altura das plantas cultivadas em substrato infestado com a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} de Fol - 2 diferiu estatisticamente das demais concentrações e do resultado das plantas cultivadas em substrato sem infestação. As massas secas do sistema radicular das plantas de tomateiro

quando cultivadas em substrato previamente infestado com as concentrações 10^6 , 10^5 e 10^4 conídios mL^{-1} de Fol - 2 foram de 0,79g, 0,75g e 0,77g, respectivamente, enquanto as plantas cultivadas em substrato sem infestação apresentaram o peso de 1,68g da massa seca do sistema radicular. Quando as plantas foram cultivadas em substrato infestado com o patógeno, as massas secas da parte aérea não diferiram estatisticamente quando comparados com os das plantas cultivadas em substrato não infestado.

As plantas de tomateiro cultivadas em substrato infestado com as concentrações do isolado TO11 de Fol - 2 apresentaram um menor desenvolvimento quando comparadas com a testemunha não inoculada (Tabela 1). Nas concentrações de 10^6 e 10^5 conídios mL^{-1} do fungo as severidades da doença foram de 4,83 e 3,66, respectivamente, diferindo estatisticamente das plantas cultivadas em substrato sem infestação. As massas secas do sistema radicular das plantas cultivadas em substrato infestado não diferiram entre si, entretanto, diferiram estatisticamente das plantas testemunhas. As massa secas da parte aérea de plantas cultivadas em substrato infestado com as concentrações de 10^5 e 10^6 conídios mL^{-1} de Fol - 2 foram de 1,75g e 1,53g, respectivamente, enquanto que nas plantas cultivadas em substrato sem infestação foi de 3,65g.

Quando as plantas de tomateiro foram cultivadas em substrato infestado com o isolado TO245 de Fol - 2 apresentaram um menor desenvolvimento quando comparadas com o da testemunha não inoculada (Tabela 1). As concentrações 10^6 e 10^5 conídios mL^{-1} do isolado TO245 de Fol - 2 apresentaram valores de 5,00 e 6,00 da severidade da doença, respectivamente, sendo que a concentração 10^5 conídios mL^{-1} proporcionou a morte de todas as plantas. As plantas cultivadas em substrato infestado com o isolado TO245 de Fol - 2 nas concentrações de 10^6 e 10^4 conídios mL^{-1} apresentaram os valores de 0,44g e 0,54g para as massas secas do sistema radicular, respectivamente, diferindo estatisticamente quando comparados com o valor de 1,65g da massa seca do sistema radicular de plantas cultivadas em substrato não infestado. A massa seca da parte aérea de plantas de tomateiro cultivadas em substrato infestado com Fol na concentração de 10^6 conídios mL^{-1} foi de 1,22g, diferindo estatisticamente do peso de 3,65g das plantas cultivadas em substrato sem infestação.

Tabela 1. Efeito de concentrações de Fol - 1 e 2 na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro.

		Isolado CA4A (Fol - 1)			
Tratamento	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)	
Testemunha	1,00c	46,23a	1,67a	2,69a	
10 ⁶	2,66a	32,15b	1,04b	2,61a	
10 ⁵	2,16ab	30,83b	1,01b	2,51a	
10 ⁴	1,66bc	32,31b	1,00b	2,46a	
10 ³	1,00c	33,08b	1,00b	2,51a	
		Isolado C-21A (Fol - 2)			
	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)	
Testemunha	1,00c	51,36a	1,68a	4,30a	
10 ⁶	4,16a	30,66d	0,79c	1,51c	
10 ⁵	3,66ab	33,83dc	0,75c	1,76b	
10 ⁴	3,33b	35,71bc	0,77c	1,77b	
10 ³	3,16b	38,11b	0,96b	1,917b	
		Isolado TO11 (Fol - 2)			
	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)	
Testemunha	1,00d	46,23a	1,65a	3,65a	
10 ⁶	4,83a	30,21c	0,64b	1,75d	
10 ⁵	3,66b	30,71c	0,63b	1,53dc	
10 ⁴	2,66c	34,48cb	0,61b	1,64cb	
10 ³	2,33c	35,98b	0,74b	1,81b	
		Isolado TO245 (Fol - 2)			
	Severidade	Altura (cm)	P.R. (g)	P.A (g)	
Testemunha	1,00d	46,23a	1,65a	3,65a	
10 ⁶	5,00ab	29,58c	0,44c	1,22c	
10 ⁵	6,00a	0d	0d	0d	
10 ⁴	3,83b	36,50b	0,54c	1,60b	
10 ³	3,16c	36,41b	0,76b	2,37b	

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estaticamente entre si, de acordo com o teste Tukey (p<0,05).

Dessa forma, fica demonstrado que os isolados utilizados são adequados para o estudo, tendo sido selecionado a concentração de 10^5 conídios mL^{-1} do isolado CA4A de Fol – 1 e dos isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol –2 para as avaliações posteriores.

4.2 Efeito dos isolados de Fnp em plantas de tomateiro

A severidade da doença, a altura e as massas secas do sistema radicular e da parte aérea de plantas de tomateiro inoculadas com os isolados 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de Fnp não diferiram estatisticamente quando comparadas com as plantas não inoculadas e com as plantas tratadas com o meio de cultura BD (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito dos isolados de Fnp na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura, nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro.

Tratamento	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00	60,90a	2,62a	4,06a
Meio de cultura (BD)	1,00	59,54a	2,61a	4,02a
233	1,00	59,36a	2,58a	4,03a
233/1	1,00	59,83a	2,63a	4,05a
141/3	1,00	60,53a	2,59a	4,05a
251	1,00	60,25a	2,59a	4,06a
251/2	1,00	60,46a	2,60a	4,03a
251/5	1,00	60,05a	2,60a	4,04a
245	1,00	60,53a	2,58a	4,03a
245/1	1,00	60,48a	2,58a	4,05a
257	1,00	60,16a	2,60a	4,05a

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$).

4.3 Efeito dos isolados de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro

4.3.1 Tratamento do sistema radicular de plântulas de tomateiro com inóculo produzido em meio líquido de Fnp

O isolado G21A de Fol - 2 proporcionou as severidades da doença de 1,83 e 2,00 para as plantas de tomateiro tratadas com os isolados 257 e 245/1 de Fnp, respectivamente, diferindo estatisticamente das plantas não tratadas com os isolados de Fnp (Tabela 3). As alturas das plantas de tomateiro foram estatisticamente semelhantes para os isolados de Fnp, não diferindo estatisticamente do resultado de 52,33cm da altura das plantas não inoculadas, mas diferindo estatisticamente da altura das plantas cultivadas em substrato infestado com o patógeno (Tabela 3). A massa seca do sistema radicular não apresentou diferença estatística entre os tratamentos avaliados. Com exceção do isolado 251/2 as plantas tratadas com os demais isolados diferiram estatisticamente quanto a massa seca da parte aérea, bem como diferindo estatisticamente quando comparadas com o resultado das plantas cultivadas em substrato infestado com o isolado C-21A de Fol - 2.

As plantas tratadas com os isolados não patogênicos diferiram estatisticamente quando comparadas com o resultado de 30,43cm da altura das plantas cultivadas em substrato infestado com o isolado TO11 (Tabela 3). O controle da doença foi de 36,05%, 31,97% e 31,97% para as plantas tratadas com os isolados 251/2, 245/1 e 141/3, respectivamente, seguido dos demais isolados, diferiram estatisticamente quando comparados com o das plantas cultivadas em substrato infestado. A massa seca da parte aérea de plantas de tomateiro tratado com os antagonistas diferiu estatisticamente das obtidas das plantas cultivadas em substrato infestado com o patógeno. Também para a massa seca do sistema radicular das plantas tratadas com os isolados de Fnp, estes proporcionaram valores superiores às cultivadas em substrato infestado com o patógeno.

Tabela 3. Efeito dos isolados de Fnp (inóculo produzido em meio líquido) na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro cultivadas em substrato infestado com Fol - 2.

Isolado C-21A (Fol - 2)				
Tratamento	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00b	52,33a	0,89a	3,11a
Fol*	3,66a	41,36c	0,72a	1,82e
233	2,33ab	49,88ab	0,88a	2,52bcd
233/1	2,16ab	50,18a	0,85a	2,35cd
141/3	2,16ab	51,46a	1,04a	2,82abc
251	2,33ab	52,61a	0,82a	2,48bcd
251/2	2,16ab	44,66b	0,85a	2,11de
245	2,16ab	47,11ab	0,92a	2,69abc
245/1	2,00b	48,08ab	0,94a	2,66bcd
257	1,83b	49,25ab	0,91a	3,01ab
Isolado TO11 (Fol - 2)				
Tratamento	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00c	52,63a	1,05a	2,93a
Fol*	4,16a	30,43e	0,64d	1,25e
233	3,16ab	43,48cd	0,88abc	2,62bc
233/1	3,83ab	50,80ab	0,68cd	2,32c
141/3	2,83b	49,25abc	0,86abc	2,42bc
251	3,00ab	48,35abc	0,77bcd	3,26a
251/2	2,66b	39,68d	0,84abcd	1,58d
245	3,00ab	48,55abc	0,93abc	1,59d
245/1	2,83b	50,38ab	0,90a	2,61bc
257	3,33ab	44,81bcd	0,96ab	2,60bc
Isolado TO245 (Fol - 2)				
Tratamento	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00c	53,06a	0,99a	3,07a
Fol*	4,83a	30,21c	0,27c	0,80d
233	2,50b	49,80a	0,73b	1,73bc
233/1	2,00b	50,85a	0,87ab	1,96b
141/3	2,16b	51,93a	0,92a	2,93a
251	2,33b	43,15b	0,75b	1,59bc
251/2	3,00b	39,21b	0,83ab	1,45c
245	2,50b	43,51b	0,84b	1,8bc
245/1	2,50b	50,10a	0,74b	1,92b
257	2,50b	42,08b	0,83ab	1,58bc

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estaticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$). *Fol. As mudas foram produzidas em substrato não tratado com os isolados antagonistas.

Para o isolado TO245 de Fol - 2, as plantas tratadas com os isolados de Fnp diferiram estatisticamente do desenvolvimento (altura e massas secas do sistema radicular e da parte aérea) das plantas cultivadas em substrato infestado com o patógeno. Não houve diferença quanto à severidade da doença entre as plantas tratadas com os isolados de Fnp. Entretanto, todas as plantas tratadas com os isolados de Fnp diferiram estatisticamente quando comparadas com as plantas cultivadas em substrato infestado com o isolado TO245 de Fol - 2 (Tabela 3).

4.3.2 Tratamento do substrato para cultivo de plantas de tomateiro com inóculo dos isolados de Fnp

4.3.2.1 Tratamento do substrato para cultivo das plantas de tomateiro com inóculo produzido em talco de Fnp

As plantas cultivadas em substrato previamente tratado com os isolados de Fnp apresentaram um desenvolvimento (altura e massas secas do sistema radicular e da parte aérea das plantas de tomateiro) equivalente ao da testemunha cultivada em substrato infestado com o isolado CA4A de Fol - 1 (Tabela 4).

A severidade da doença variou entre 1,16 e 1,33 não diferindo estatisticamente quando comparado com as plantas cultivadas em substrato infestado com o isolado CA4A Fol - 1. Para os substratos infestados com os isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2, todos os isolados de Fnp proporcionaram um desenvolvimento estatisticamente superior ao tratamento com os substratos infestados com os patógenos (Tabela 4). As severidades da doença variaram entre 1,16 e 1,66; 1,66 e 2,50; 1,16 e 2,50 para as plantas tratadas com os isolados de Fnp e cultivadas em substrato infestado com os isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2, respectivamente, diferindo estatisticamente das plantas cultivadas em substrato infestado em com os isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2. Essas notas correspondem a um controle estimado entre 65 e 50%, 59 e 37%, 75 e 44% para as plantas tratadas com os isolados de Fnp e cultivadas em substrato infestado com os isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2, respectivamente.

Tabela 4. Efeito dos isolados de Fnp (inóculo produzido em talco) na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cultivadas em substrato infestado com Fol - 1 e 2.

Tratamento	Isolado CA4A (Fol - 1)				Isolado C-21A (Fol - 2)			
	Severidade	Altura	P.R.(g)	P.A.(g)	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00a	41,20a	0,84a	2,13	1,00a	45,16a	0,71a	2,48a
Fol*	1,83a	38,13a	0,69b	1,75c	3,33c	35,43b	0,31c	0,93e
233	1,33a	41,10a	0,70ab	2,01ab	1,33b	43,38a	0,58ab	1,72d
233/1	1,16a	41,66a	0,74ab	2,04ab	1,66b	46,16a	0,65ab	2,29abc
141/3	1,16a	40,35a	0,66ab	2,02ab	1,33b	46,26a	0,49b	2,08c
251/2	1,33a	41,43a	0,69ab	1,93abc	1,16b	44,48a	0,67a	1,74d
251/5	1,16a	41,66a	0,64b	1,86bc	1,33b	42,50a	0,62ab	2,17bc
245/1	1,33a	42,81a	0,64b	1,90abc	1,16b	44,51a	0,58ab	1,71d
257	1,33a	39,96a	0,64b	1,96abc	1,33b	40,36ab	0,64ab	1,61d
Tratamento	Isolado TO11 (Fol - 2)				Isolado TO245 (Fol - 2)			
	Severidade	Altura	P.R.(g)	P.A.(g)	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00 c	47,43a	1,50a	3,73a	1,00 c	50,61a	1,21a	4,02a
Fol*	4,00a	34,63c	0,47f	1,69f	4,50a	26,63d	0,30h	0,93g
233	2,16bc	39,48bc	0,93cde	2,89b	2,00bc	49,90a	0,92cde	3,75ab
233/1	1,83bc	47,21a	0,89de	2,43bcd	1,66bc	49,08a	1,01bc	3,36abcd
141/3	1,83bc	46,63ab	0,89de	2,05de	2,00bc	45,05ab	1,01bc	3,10bcd
251	1,83bc	42,15ab	1,03bc	2,00def	2,00bc	45,21ab	0,90de	2,80bc
251/2	1,83bc	43,03ab	0,87e	2,07de	1,16c	41,03abc	0,99bcd	2,63de
251/5	2,16bc	45,15ab	0,87e	1,98ef	1,16c	46,11ab	0,88e	2,71cde
245	1,66bc	44,86ab	1,01bc	2,25cd	1,83bc	39,28bc	0,72f	2,29ef
245/1	2,16bc	46,01ab	1,07b	2,57bc	2,50b	33,40cd	0,64g	1,67f
257	2,50b	45,85ab	0,96bcd	2,40cd	1,83bc	42,53ab	1,02b	3,40abc

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estaticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05\%$).

*Fol. As mudas foram produzidas em substrato não tratado com os isolados antagonistas.

4.3.3 Tratamento do substrato para produção de mudas com inóculo dos isolados de Fnp

4.3.3.1 Tratamento de substrato para produção de mudas com inóculo produzido em meio líquido de Fnp

O desenvolvimento das mudas produzidas em substrato infestado com inóculo produzido em meio líquido dos isolados de Fnp e cultivadas posteriormente em substrato com os isolados C-21A, TO11 de Fol - 2, diferiu estatisticamente das plantas cujos substratos para a produção de mudas não foi tratado com os isolados de Fnp (Tabela 5). A severidade da doença para as plantas cujas mudas foram produzidas em substratos tratados com os isolados de Fnp e transplantadas para substrato infestado com os isolados C-21A e TO11 de Fol - 2 diferiu da severidade da doença das plantas, cujas mudas não foram produzidas em substrato tratado com o antagonista (Tabela 5).

Para o isolado TO245 de Fol – 2 a severidade da doença das plantas cujas mudas foram produzidas em substrato tratado com os isolados 233, 233/1, 251/2, 245/1 e 257 de Fnp, diferiu estatisticamente quando comparada com as plantas tratadas com os isolados 141/3, 251, 251/5 e 245 de Fnp e com as plantas cujas mudas não foram produzidas em substrato tratado com os isolados antagonistas e cultivadas em substrato infestado com o patógeno (Tabela 5). Todas as plantas morreram durante a execução do ensaio, quando produzidas em substratos tratados com os isolados 141/3, 251, 251/5 e 245 e cultivadas em substratos infestados com o isolado TO245 de Fol raça 2. Assim, os isolados 233, 233/1, 251/2, 245/1 e 257 foram eficientes em reduzir a severidade da doença causada pelo isolado TO245 de Fol - 2 (Tabela 5). As mudas de tomateiro cv. Viradoro produzidas em substratos tratados com inóculo produzido em meio líquido dos isolados 233, 233/1, 251/2, 245/1 e 257 de Fnp e cultivadas em substrato infestado com o isolado TO245 de Fol - 2 apresentaram o desenvolvimento inferior ao da testemunha (43,73cm), mas muito superior ao das plantas cujas mudas não foram produzidas em substrato tratado (Tabela.5).

Tabela 5. Efeito dos isolados de Fnp no tratamento de substrato (inóculo produzido em meio líquido) na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro cultivado em substrato infestado com inóculo de Fol - 2.

Isolado C21A (Fol - 2)				
Tratamento	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00c	46,13a	3,13a	4,23a
Fol*	4,67a	28,93c	0,83d	1,74d
233	3,17b	40,02b	1,57b	2,46c
233/1	3,33b	38,13b	1,39c	2,56c
141/3	2,67b	41,72ab	1,50bc	3,16b
251	3,33b	38,13ab	1,39bc	2,56c
251/2	2,50b	38,92b	1,57b	3,04b
251/5	2,83b	37,05b	1,61b	3,31b
245	3,17b	41,13ab	1,57b	2,71c
245/1	2,83b	41,22ab	1,49bc	2,66c
257	3,17b	37,45b	1,52bc	2,48c
Isolado TO11 (Fol - 2)				
	Severidade	Altura (cm)	P. R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00c	44,97a	2,63a	4,56a
Fol*	3,67a	26,65d	0,73c	1,16c
233	2,50b	38,88b	1,56b	2,60b
233/1	2,83ab	36,93bc	1,61b	2,70b
141/3	2,67b	32,40c	1,71b	2,51b
251	2,67b	33,23c	1,47b	2,57b
251/2	2,33b	35,27bc	1,60b	2,61b
251/5	2,67b	35,68bc	1,52b	2,64b
245	2,83ab	36,62bc	1,54b	2,55b
245/1	2,50b	36,47bc	1,65b	2,60b
257	2,50b	37,87b	1,62b	2,61b
Isolados TO245 (Fol - 2)				
	Severidade	Altura (cm)	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00c	43,73a	2,77a	4,45a
Fol*	6,00a	0,00c	0,00c	0,00 c
233	4,00b	34,95b	1,49b	2,48b
233/1	3,50b	32,97b	1,49b	2,48b
141/3	6,00a	0,00c	0,00c	0,00c
251	6,00a	0,00c	0,00c	0,00c
251/2	3,33b	32,43b	1,47b	2,50b
251/5	6,00a	0,00c	0,00c	0,00c
245	6,00a	0,00c	0,00c	0,00 c
245/1	3,50b	32,47b	1,56b	2,51b
257	3,33b	32,35b	1,46b	2,52b

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estaticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$). * Fol. As mudas foram produzidas em substrato não tratado com os isolados antagonistas.

4.3.3.2 Tratamento de substrato para produção de mudas de tomateiro com inóculo produzido em talco de Fnp

As mudas de tomateiro cv. Viradoro produzidas em substrato previamente tratado com inóculo produzido em talco dos isolados de Fnp e cultivadas em substrato infestado com Fol apresentaram o desenvolvimento superior, quando comparadas com as mudas produzidas sem o antagonista e cultivadas em substrato infestado com os isolado CA4A de Fol - 1 e com os isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2 (Tabela 6). A severidade da doença de plantas de tomateiro, cujas mudas foram produzidas em substratos tratados com os antagonistas diferiu estatisticamente da severidade da doença das plantas cultivadas em substratos infestados com os isolados C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2 (Tabela 6). Também nesse estudo o isolado TO245 de Fol - 2 mostrou-se mais severo que os isolados C-21A e TO11 de Fol - 2.

Os isolados de Fnp avaliados quanto à eficiência no controle da Murcha - de -Fusário do tomateiro apresentaram atividade de biocontrole, sendo selecionado o isolado 251/2 de Fnp para os estudos utilizando diferentes concentrações e métodos de introdução do antagonista em substrato de produção e de cultivo de plantas de tomateiro cv. Viradoro.

4.4 Efeito de concentrações do isolado 251/2 de Fnp na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro

A severidade da doença das plantas de tomateiro cv. Viradoro cultivadas em substrato infestado com os isolado TO245 de Fol - 2 foi inversamente proporcional à concentração do isolado 251/2 de Fnp presente na suspensão, onde os sistemas radiculares das mudas foram mergulhados. O controle de doença foi de aproximadamente 73%, 73% e 64% quando as plantas foram tratadas com o isolado 251/2 de Fnp na concentração 10^7 conídios mL^{-1} e cultivadas em substrato infestado com as concentrações de 10^3 , 10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} do isolado TO245 de Fol - 2, respectivamente, diferindo das demais concentrações do isolado 251/2 de Fnp (Figura 1). Os resultados da altura das plantas cujos sistemas radiculares foram tratados com o isolado 251/2 de Fnp foram superiores

quando comparados com os resultados das plantas não tratadas e cultivadas em substrato infestado nas concentrações de 10^3 , 10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} do isolado TO245 de Fol raça 2 (Figura 2). As massas secas do sistema radicular e da parte aérea das plantas de tomateiro tratadas com as concentrações do isolado 251/2 de Fnp também foram superiores quando comparados com os resultados das plantas não tratadas e cultivadas em substrato infestado com as concentrações 10^3 , 10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} do isolado TO245 de Fol - 2, respectivamente (Figura 3 e 4). A eficiência do isolado 251/2 de Fnp em reduzir a severidade da doença foi mais evidente quando as plantas foram tratadas com as maiores concentrações do inóculo e cultivadas em substrato infestado com as menores concentrações do isolado TO245 de Fol - 2.

4.5 Efeito de métodos de introdução do isolado 251/2 de Fnp na supressão da Murcha-de-Fusário do tomateiro

A severidade da doença nas plantas produzidas em substrato tratado com o inóculo do isolado 251/2 de Fnp obtido em talco e depois cultivadas em substrato tratado com o mesmo inóculo e infestado com o isolado C-21A de Fol foi estatisticamente semelhante à testemunha evidenciando a influência do antagonista (Tabela 7). Todas as outras formas de introdução do antagonista, com exceção das plantas produzidas em substrato tratado com inóculo produzido em meio líquido e transplantadas para substrato infestado com o patógeno, diferiram do tratamento cujas plantas foram cultivadas sem a presença do antagonista no substrato infestado com o isolado C-21A de Fol - 2.

A altura das mudas de tomateiro produzidas em substrato tratado com inóculo produzido em talco do antagonista 251/2 de Fnp e transplantadas para substrato também tratado com o antagonista obtido da mesma forma foi semelhante à testemunha e superior ao das plantas que desenvolveram em substrato infestado apenas com o isolado C-21A de Fol - 2 (Tabela 7). Todas as outras formas de introdução do antagonista, cujas plantas foram cultivadas em substrato infestado com o isolado C-21A de Fol - 2 apresentaram desenvolvimento superior quando comparado com as plantas não tratadas com o antagonista.

Tabela 6. Efeito dos isolados de Fnp no tratamento de substrato (inóculo produzido em talco) na severidade da Murcha-de-Fusário, na altura e nas massas secas do sistema radicular (PR) e da parte aérea (PA) de plantas de tomateiro cv. Viradoro cultivadas em substrato infestado com inóculo de Fol - 1 e 2.

Tratamento	Isolado CA4A (Fol - 1)				Isolado C-21A (Fol - 2)			
	Severidade	Altura	P.R.(g)	P.A.(g)	Severidade	Altura	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00a	42,25a	1,22a	3,67a	1,00c	46,13a	2,81a	4,40a
Fol*	3,00b	25,72c	0,60c	1,68f	4,66a	30,13c	0,57d	0,87e
233	2,67b	33,45b	0,93b	2,14d	2,66b	38,60b	1,54bc	2,52c
233/1	2,67b	36,87b	0,91b	2,18cd	3,00b	37,18b	1,59bc	2,44dc
141/3	2,67b	33,22b	0,90b	2,04de	3,16b	37,73b	1,53bc	2,28d
251	2,50b	36,23b	1,02b	1,90ef	3,16b	36,93b	1,43c	2,56c
251/2	2,67b	37,15b	0,97b	2,47b	2,83b	36,18b	1,62bc	2,55c
251/5	2,50b	37,03b	0,99b	2,39b	2,66b	36,37b	1,69b	3,05c
245	2,67b	35,32b	0,98b	2,16cd	3,16b	38,30b	1,64b	2,47dc
245/1	2,50b	37,52ab	0,95b	2,19cd	2,66b	36,40b	1,68b	2,42dc
257	2,33b	36,85b	0,96b	2,23bcd	2,66b	38,32b	1,53bc	2,53c
	Isolado TO11 (Fol - 2)				Isolado TO245 (Fol - 2)			
	Severidade	Altura	P.R.(g)	P.A.(g)	Severidade	Altura	P.R.(g)	P.A.(g)
Testemunha	1,00c	43,63a	2,72a	4,45a	1,00e	39,73 a	2,38a	4,65a
Fol*	3,80a	25,08c	0,73c	1,17c	6,00a	0,00 d	0,00f	0,00f
233	2,33b	39,25b	1,62b	2,58b	4,17bcd	16,20b	0,46e	1,31e
233/1	2,33b	39,25b	1,62b	2,58b	4,83ab	16,63b	0,50ed	1,31e
141/3	2,50b	37,15b	1,58b	2,61b	4,67bc	13,40c	0,57ed	1,37e
251	2,50b	38,30b	1,50b	2,45b	4,67bc	13,40c	0,63d	1,24e
251/2	2,50b	37,90b	1,70b	2,57b	3,17d	35,90a	1,56b	2,54b
251/5	2,50b	38,43b	1,57b	2,57b	3,33d	36,20a	1,46bc	2,69b
245	2,50b	37,43b	1,50b	2,52b	3,67dc	35,62a	1,49bc	2,65b
245/1	2,50b	36,60b	1,62b	2,57b	4,67bc	16,37bc	0,46e	1,51d
257	2,33b	38,58b	1,56b	2,56b	3,50d	35,00a	1,34c	2,34c

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estaticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$). * Fol. As mudas foram produzidas em substrato não tratado com os isolados antagonistas.

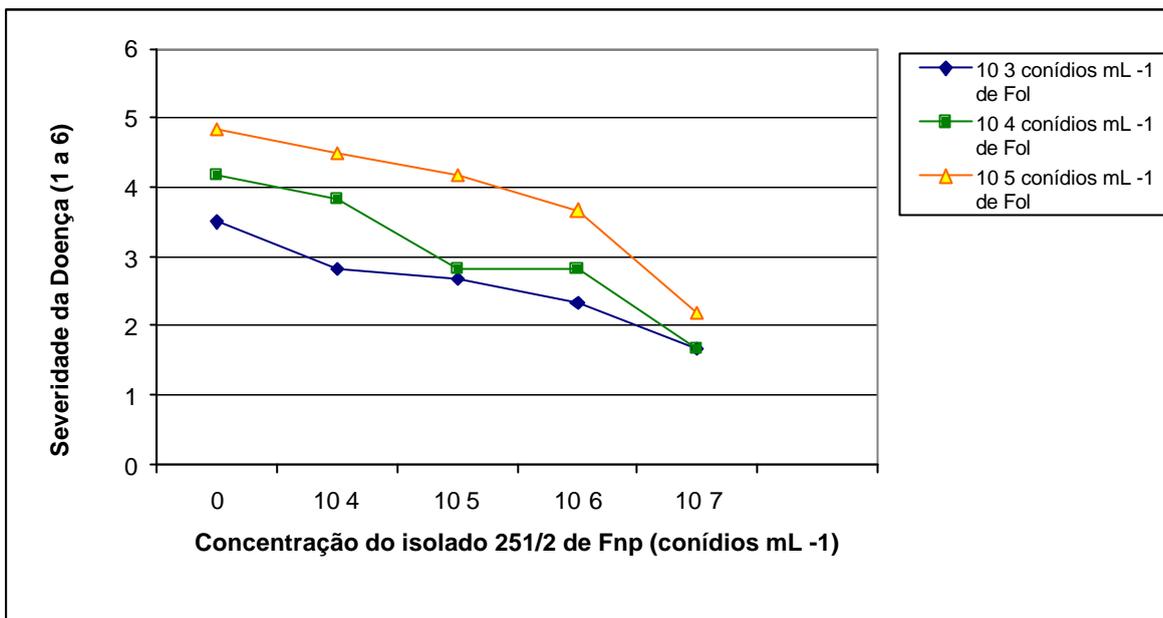


Figura 1. Efeito das concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na severidade da Murcha-de-Fusário.

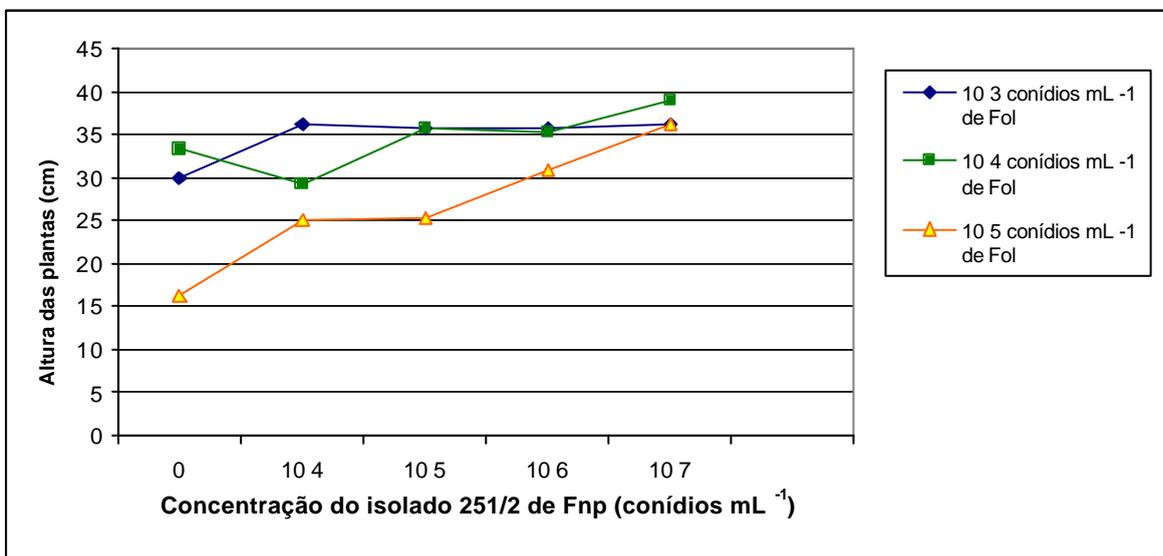


Figura 2. Efeito das concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na altura de plantas de tomateiro.

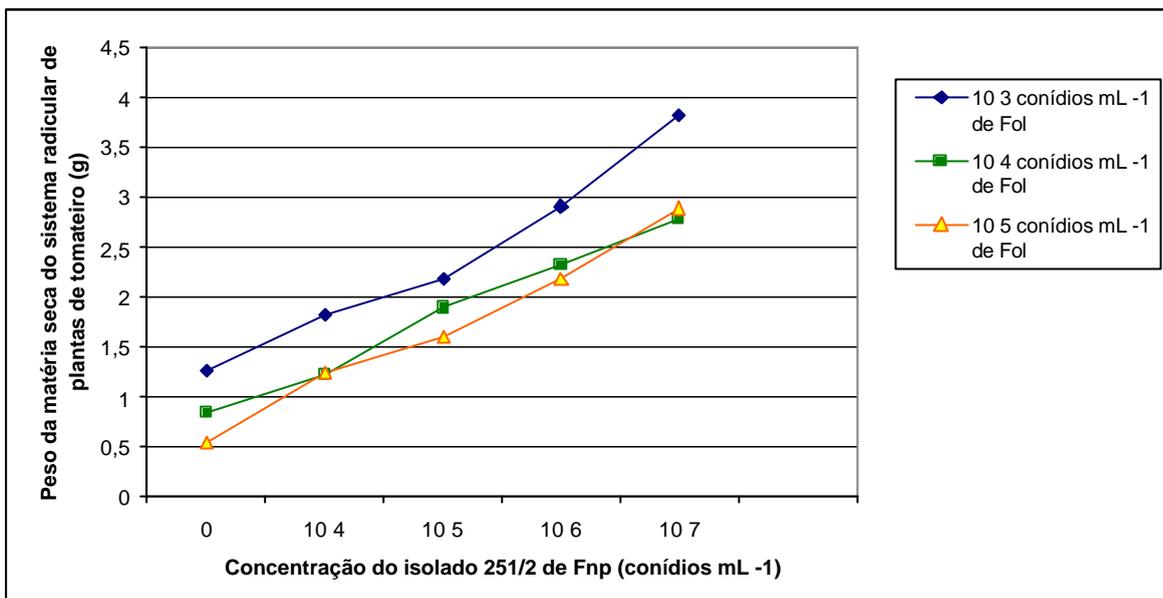


Figura 3. Efeito das concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na massa seca do sistema radicular de plantas de tomateiro.

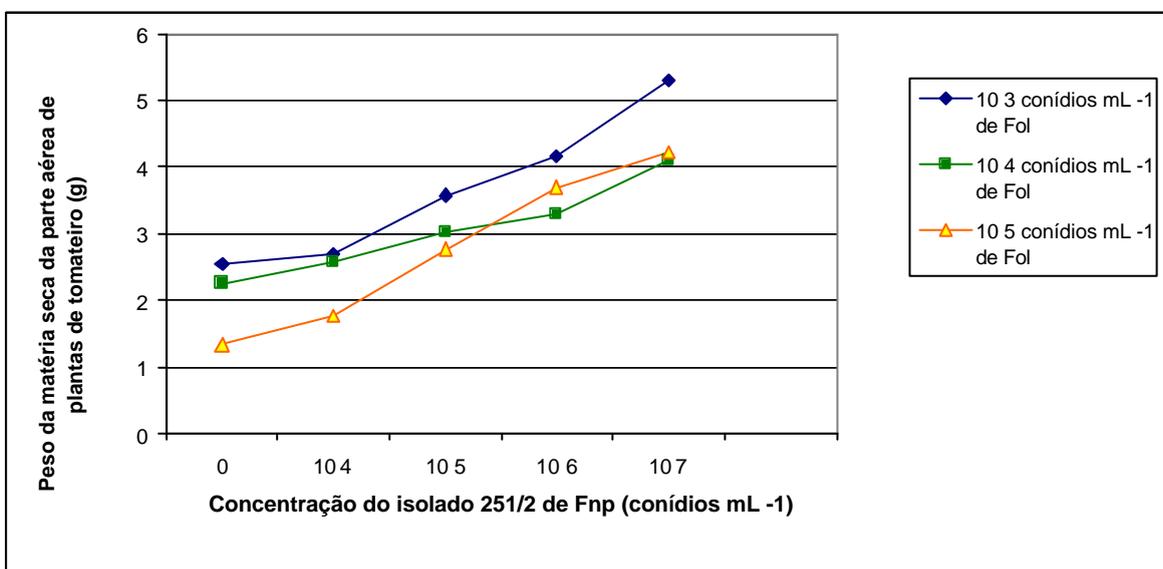


Figura 4. Efeito das concentrações do isolado 251/2 de Fnp e do isolado TO245 de Fol - 2 na massa da parte aérea de plantas de tomateiro.

Tabela 7. Efeito de métodos de introdução do isolado 251/2 de Fnp na severidade da Murcha-de-Fusário e na altura de plantas de tomateiro cultivadas em substrato infestado com isolados de Fol - 2.

Tratamento	Isolado C-21A		Isolado TO11		Isolado TO245	
	Severidade	Altura (cm)	Severidade	Altura (cm)	Severidade	Altura (cm)
Testemunha	1,00d	60,07a	1,00d	60,07a	1,00d	60,07a
Fol*	3,33a	37,90c	4,33a	32,23e	5,33a	22,97e
Substrato de cultivo de mudas tratado com inóculo em talco	2,00bc	57,37b	1,67cd	53,58cd	2,17c	45,90c
Substrato de produção de mudas e substratos para cultivo tratados com inóculo produzido em talco	1,55cd	57,97ab	1,50d	56,88b	2,00c	51,90b
Substrato de produção de mudas tratado com inóculo produzido em talco	1,67bcd	57,00b	2,50bc	52,43 d	3,17b	48,67bc
Substrato de cultivo de mudas tratado com inóculo produzido em meio líquido	2,00bc	53,12b	2,67b	52,62d	3,67b	49,03bc
Substrato de produção de mudas e substrato de cultivo tratado com inóculo produzido em meio líquido	1,83bc	57,38b	2,50bc	56,05bc	3,50b	49,97b
Substrato para a produção de mudas tratado com inóculo produzido em meio líquido	2,5ab	56,05b	2,67b	51,38d	3,67b	35,73d

Índice médio de severidade (Notas entre 1 e 6). Médias seguidas da mesma letra não diferem estaticamente entre si, de acordo com o teste Tukey ($p < 0,05$). * Fol. As mudas foram produzidas em substrato não tratado com os isolados antagonistas.

5 DISCUSSÃO

Os estudos de patogenicidade dos isolados utilizados demonstraram que as concentrações 10^5 e 10^6 conídios mL^{-1} dos isolados C-21A e TO11 de Fol - 2 causaram uma maior severidade da doença, bem como diminuição do desenvolvimento das plantas, quando comparados com a testemunha cultivada em solo não infestado. Por outro lado, o isolado TO245 de Fol - 2 foi o mais patogênico, quando comparado com os demais isolados. Inclusive, nas menores concentrações do inóculo do patógeno as plantas apresentaram sintomas da doença (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com He et al. (2002) que verificaram que a concentração de 10^6 UFC g^{-1} de solo de *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* promoveu a morte das plantas de aspargo em todos os tratamentos, enquanto que em baixas concentrações de inóculo, todas as plantas de aspargo sobreviveram.

As plantas de tomateiro cv. Viradoro resistente ao Fol - 1 apresentaram baixa severidade da doença quando foram cultivadas em solo infestado com a concentração 10^6 conídios mL^{-1} do isolado CA4A de Fol raça 1. Esses resultados demonstram que a cultivar Viradoro apresenta resistência à Murcha-de-Fusário causado por Fol - 1. Andrade et al. (2000) verificaram que plantas de tomateiro de diferentes cultivares inoculadas com a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} dos isolados C-1, C-7, C-21A e F-23 de Fol - 2 apresentaram valores superiores a 50% de incidência da doença. Em ensaios de avaliação de resistência Santos et al. (1993) utilizaram a concentração de 10^7 conídios mL^{-1} do inóculo de Fol - 1 e Fol - 2 para determinar a resistência de plantas à doença.

As plantas de tomateiro cv. Viradoro, cujo sistema radicular foi imerso em uma suspensão dos isolados 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de Fnp e cultivadas em condições de casa de vegetação, não apresentaram sintomas de doenças vasculares. Isto foi verificado por meio dos resultados da severidade da doença, da altura e das massas secas do sistema radicular e da parte aérea das plantas de tomateiro que não diferiram estatisticamente quando comparados com os valores das plantas não inoculadas com os isolados de Fnp (Tabela 2). Esses resultados estão de acordo com os autores Baker et al. (1978); Ishiba et al. (1981); Wymore & Baker (1982); Ogawa & Komada (1984); Scheneider (1984); Alabouvette et al. (1984); Biles & Martin (1989); Garibaldi et al. (1990a); Yamagushi et al. (1992); Hervás et al. (1995); Larkin & Fravel (1999); He et al. (2001; 2002).

As mudas de tomateiro cv. Viradoro, cujo sistema radicular foi tratado com os isolados 233, 233/1, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5, 141/3 e 257 de Fnp e cultivadas em substrato previamente infestado com os isolados CA4A de Fol - 1, C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2 apresentaram um maior desenvolvimento, bem como uma menor severidade da doença (Tabela 3). Isto se deve a ação dos antagonistas por meio da competição por sítios de infecção (Schneider, 1984; Tamietti & Pramotton, 1990, Mandeel & Baker, 1991; Eparvier & Alabouvette, 1994), da competição por nutrientes (Louvet et al., 1981; Alabouvette, 1986; Mandeel & Baker, 1991; Alabouvette & Couteaudier, 1992, Couteaudier, 1992) ou pela indução de resistência (Mandeel & Baker, 1991; Larkin & Fravel, 1996; Fuchs et al., 1997; Larkin & Fravel, 1999; Benhamou & Garand, 2001; Benhamou et al., 2002) por meio da formação de proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas) como as quitinases e β 1-3 glucanases (Duijff et al., 1999), formação de pectinase e celulase (Benhamou & Garand, 2001). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Garibaldi et al. (1990b) que verificaram a colonização das raízes de plantas de melão e rabanete pelo isolado 233 de Fnp, bem como com os isolados 245, 233, 251/1, 251/2, 251/3, 251/4, 251/5, 251/6, 233/1, 233/2, 245/1, 141/3, 245/10, 245/11 de Fnp que foram eficientes no controle da Murcha-de-Fusário do cravo (Garibaldi et al., 1992), do ciclamem (Garibaldi & Minuto, 1993; Minuto et al., 1995b) e do manjericão (Minuto et al., 1995a).

Quando o sistema radicular de plantas de tomateiro foi imerso em inóculo dos isolados de Fnp e as plantas cultivadas em substrato infestado com Fol, todos os isolados foram eficientes em reduzir a severidade da doença (Tabela 3). Esses resultados estão

de acordo com Garibaldi et al. (1986, 1987), Tramier et al. (1983), Postma & Rattink (1992), Minuto et al. (1995b) que verificaram que os isolados de Fnp introduzidos tanto pela imersão das raízes antes do transplante, como pelo tratamento do solo, foram eficientes em colonizar a rizosfera da planta, conseqüentemente prevenindo a penetração de Fnp nos tecidos vasculares. Plantas de cravo cultivadas em solo infestado com *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* e tratadas com isolados de Fnp apresentaram uma menor incidência da doença, quando comparadas com plantas cultivadas em solo infestado somente com o patógeno (Garibaldi et al., 1990b). Os resultados das plantas de tomateiro cultivadas em substratos infestados com os isolados de Fnp formulado em talco (Tabela 4) foram semelhantes aos obtidos por Minuto et al. (1995b) que verificaram que os isolados 251/2 e F1/11 de Fnp foram eficientes em controlar a doença, quando os isolados de Fnp foram formulados em talco e introduzidos no tratamento do solo ou das raízes.

As mudas de tomateiro produzidas em substrato tratado com inóculo líquido dos isolados 233, 233/1, 141/3, 251, 251/2, 251/5, 245, 245/1 e 257 de Fnp e transplantadas para substrato infestado com os isolados C-21A e TO11 de Fol - 2, respectivamente, apresentaram uma menor severidade da doença, bem como um maior desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular. Entretanto, quando as plantas foram cultivadas em substrato infestado com o isolados TO245 de Fol - 2, somente os isolados 233/1, 251/2, 245/1 e 257 de Fnp foram eficientes em reduzir a severidade da doença (Tabela 5). Esses resultados estão de acordo com Alabouvette et al. (1993) que verificaram que a proteção por meio de indução de resistência foi pouco efetiva em ensaios onde o antagonista estava fisicamente separado do patógeno. Entretanto, a eficiência do controle foi verificada quando os isolados Fo47 de Fnp foi introduzido no solo, devido provavelmente ao mecanismo de ação do antagonista por meio de competição por nutrientes e sítios de infecção.

As mudas de tomateiro produzidas em substrato tratado com inóculo produzido em talco dos isolados de Fnp e cultivadas em substrato infestado com os isolados C-21A e TO11 de Fol raça 2 apresentaram uma menor severidade da doença, bem como um maior desenvolvimento. Por outro lado, quando as plantas foram cultivadas em substrato infestado com o isolado TO245 de Fol - 2, somente os isolados 251/2, 251/5, 245 e 257 de Fnp foram eficientes em reduzir a severidade da doença (Tabela 6). Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Minuto et al. (1997) e Yamagushi et al., (1992) que verificaram

que os isolados 251/2 e MT0062 de Fnp apresentaram maior eficiência no controle da doença quando formulado em uma mistura de conídios, fragmentos de micélio e clamidósporos dispersos em talco.

O isolado 251/2 de Fnp foi o mais eficiente em reduzir a severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro em plantas de tomateiro cv. Viradoro. Esse resultado está de acordo com Garibaldi et al. (1992) e Minuto et al. (1995b) que verificaram a eficiência do isolado 251/2 de Fnp em controlar a Murcha-de-Fusário do cravo e do manjeriço.

As plantas de tomateiro tratadas na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} do isolado 251/2 de Fnp e cultivadas em substrato infestado com o isolado TO245 de Fol - 2 na concentração de 10^3 apresentaram um maior desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular, bem como uma menor severidade da doença, quando comparadas com as concentrações 10^4 , 10^5 , 10^6 conídios mL^{-1} do isolado 251/2 de Fnp e com as plantas cultivadas em substrato infestado com o isolado patogênico na concentração de 10^4 e 10^5 conídios mL^{-1} (Figura 1, 2, 3 e 4). Por outro lado, as plantas tratadas com as menores concentrações dos isolados de Fnp e cultivadas em substrato infestado com as maiores concentrações dos isolados patogênicos apresentaram uma maior severidade da doença, ou seja, uma menor eficiência na redução da severidade da doença, bem como um menor desenvolvimento, não diferindo estatisticamente das plantas cultivadas em substrato infestado com o patógeno. Os resultados estão de acordo com Alabouvette & Couteaudier (1992) que avaliando a eficiência do biocontrole da Murcha-de-Fusário do tomateiro verificaram que quando o isolado Fo47 de Fnp foi introduzido nas concentrações de 1×10^5 e 1×10^6 propágulos mL^{-1} , as plantas de tomateiro apresentaram menor severidade da doença. O conhecimento da relação da densidade de inóculo entre patógeno e antagonista poderá determinar o nível populacional dos antagonistas que serão requeridos para obter um controle satisfatório da doença, tão bem quanto ao nível populacional do patógeno em que os antagonistas serão eficientes (Mandeeel & Baker, 1991; Lemanceau & Alabouvette, 1991; Postma & Rattink, 1992; Minuto et al., 1995a; Hervás et al., 1995; Larkin & Fravel, 1999; Valdebenito-Sanhueza & Sônego, 2001).

As plantas de tomateiro da cv. Viradoro, cujas mudas foram produzidas em substrato tratado com inóculo em talco do isolado 251/2 e cultivadas em substrato tratado com inóculo em talco do isolado 251/2 de Fnp, apresentaram um maior desenvolvimento (altura e massas secas do sistema radicular e da parte aérea), quando

comparadas com o desenvolvimento das plantas cultivadas em substratos infestados com os isolados C-21A, TO11, TO245 de Fol - 2. A severidade da doença de plantas de tomateiro tratadas com o isolado 251/2 de Fnp e cultivadas em substrato infestado com o patógeno diferiram estatisticamente da severidade da doença de plantas cultivadas em substrato infestado com os isolados C-21A, TO11, TO245 de Fol - 2. Os resultados demonstram que a introdução do isolado 251/2 de Fnp formulado em talco no tratamento de substrato para a produção de mudas e no tratamento de substrato para o cultivo das plantas foi o método mais eficiente de introdução do antagonista na redução da severidade da doença causada pelos isolados patogênicos C-21A, TO11 e TO245 de Fol - 2 (Tabela 7). A introdução dos isolados de Fnp pode induzir a supressividade do solo a Murcha-de-Fusário em substratos para a produção de mudas e de cultivo de plantas de tomateiro. Esses resultados estão de acordo com Alabouvette et al. (1996, 1998 e 1999), conseqüentemente para a redução da severidade da doença é necessário conhecer a forma de introdução do isolado antagonista, bem como a concentração adequada para que o antagonista possa competir como o patógeno no solo.

6 CONCLUSÕES

Os isolados 233, 233/1, 141/3, 245, 245/1, 251, 251/2, 251/5 e 257 de *Fusarium oxysporum* não patogênicos são eficientes na redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2.

O isolado 251/2 de *Fusarium oxysporum* não patogênico, entre os isolados testados, é o mais eficiente em reduzir a severidade da doença, devendo ser utilizado na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹.

A produção de mudas de tomateiro em substrato tratado com o isolado 251/2 de *Fusarium oxysporum* não patogênico formulado em talco e transplantadas para substrato também tratado com o isolado 251/2 formulado em talco é a melhor combinação de formas de introdução do antagonista para a redução da severidade da Murcha-de-Fusário do tomateiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, C.; EDEL, V.; ALABOUVETTE, C. Soil suppressiveness to Fusarium wilt: influence of cover-plant on density and diversity of Fusarium populations. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 30, p. 643-649, 1998.

ALABOUVETTE, C. Fusarium wilt-suppressive from the Chateaufrenard region: Review of a 10-year study. **Agronomie**, Paris, v. 6, p. 273-284, 1986.

ALABOUVETTE, C. Fusarium wilt suppressive soils: an example of disease suppressive soils. **Australasian Journal of Plant Pathology**, Melbourne, v. 28, p. 57-64, 1999.

ALABOUVETTE, C.; COUTEAUDIER, Y.; LOUVET, J. Soils suppressive to Fusarium wilt: mechanisms and management of suppressiveness. In: PARKER, C. A.; ROVIRA, A. D.; MOORE, K. J.; WONG, P. T. W.; KOLLMORGEN, J. F. **Ecology and management of soil borne plant pathogens**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1985, p. 101-106.

ALABOUVETTE, C.; COUTEAUDIER, Y. Biological control of Fusarium wilts with nonpathogenic Fusaria. In: TJAMOS, E. S. **Biological control of plant diseases**. New York: Plenum Press, 1992. p. 415-426.

ALABOUVETTE, C.; COUTEAUDIER, Y.; LOUVET, J. Recherches sur la resistance des sols aux maladies. IX. Dynamique des populations du *Fusarium spp.* et de *Fusarium*

oxysporum f.sp. *melonis* dans un sol résistant et dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. **Agronomie**, Paris, v. 4, p. 729-733, 1984.

ALABOUVETTE, C.; LEMANCEAU, P.; STEINBERG, C. Recent advances in the control of Fusarium Wilts. **Pesticide Science**, London, v. 37, p. 365-373, 1993.

ALABOUVETTE, C.; LEMANCEAU, P.; STEINBERG, C. Use of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and fluorescent pseudomonads to control Fusarium wilts. In: WENHUA, T.; COOK, R. J.; ROVIRA, A. **Advances in biological control of plant diseases**. Beijing: China Agricultural University Press, 1996. p. 155-164.

ALABOUVETTE, C.; SCHIPPERS, B.; LEMANCEAU, P.; BAKKER, P. A. H. M. Biological control of Fusarium wilts. In: BOLAND, G. J.; KUYKENDALL, L. D. **Plant-microbe interactions and biological control**. New York: Marcel Dekker, 1998. p. 15-35.

ALEXANDER, J. L. Progress report of national screening committee for disease resistance in the tomato from 1954-1957. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 43, p. 55-56, 1959.

ALEXANDER, L. J.; HOOVER, M. M. Progress report of national screening committee for disease resistance in tomato from 1952. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 37, p. 317-324, 1953.

ALMEIDA, R. T. **Determinação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen no estado do Ceará, e resistência de variedades de *Lycopersicon esculentum* Mill. a alguns isolamentos**. 1971. 35 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1971.

AMIR, H. Corrélatons entre l'aptitude de différentes souches de *Fusarium* à limiter la fusariose vasculaire du lin et leur activité respiratoire et leur développement saprophytique dans un sol désinfecté. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 37, p. 889-896, 1991.

AMIR, H.; ALABOUVETTE, C. Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of suppressiveness to Fusarium wilts. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford. v. 25, p. 157-164, 1993.

ANDRADE, D. E. G. T.; MICHEREFF, S. Arranjo espacial da murcha de Fusário do tomateiro no Agreste de Pernambuco. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, p. 316-319, 2000.

ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. **Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy**. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1981. p. 391-399.

ARRUDA, S. C. Murcha de Fusarium do tomateira **O Biológico**, São Paulo, v. 7, p. 199-200, 1941.

BAKER, R. Inoculum potential. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. **Plant disease: An advanced treatise**. v.2. How disease develops in populations. New York: Academic Press, 1978. p. 137-157.

BECKMAN, C. H. **The nature of wilts diseases of plants**. St. Paul: APS Press, 1987. 175 p.

BENHAMOU, N.; GARAND, C. Cytological analysis of defense-related mechanisms induced in pea root tissues in response to colonization by the non-pathogenic *Fusarium oxysporum*, strain Fo47. **Phytopathology**, St. Paul, v. 91, p. 730-740, 2001.

BENHAMOU, N.; GARAND, C.; GOULET, A. Ability of *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induce resistance against *Pythium ultimum* infection in cucumber. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, p. 4044-4060, 2002.

BILES, C. L.; MARTIN, R. D. Local and systemic resistance induced in watermelon by formae speciales of *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, p. 856-860, 1989.

BLANCARD, D. **Enfermedades del tomate: observar, identificar e luchar**. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1996. 212 p.

CARATELLI, A. **Raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) no Estado do**

Maranhão e comportamento de cultivares em relação a alguns isolamentos. 1978. 64p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1978.

CHU, E. Y.; BECHIMOL, R. L.; TADAMITSU, E. Controle biológico da Fusariose da pimenteira. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 7., 2001, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2001. p. 53-60.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539 p.

COUTEAUDIER, Y. Competition for carbon in soil and rhizosphere: a mechanism involved in biological control of *Fusarium* wilts. In: TJAMOS, E. S. **Biological control of plant diseases**. New York: Plenum Press, 1992. p. 99-104.

DE CAL, A.; PASCUAL, S.; LARENA, I.; MELGAREJO, P. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 44, p. 909-917, 1995.

DUIJFF, B. J.; POUHAIR, D.; OLIVAIN C.; ALABOUVETTE, C.; LEMANECEAU, P. Implication of systemic induced resistance in the suppression of *Fusarium* wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 104, p. 903-910, 1998.

DUIJFF, B. J.; RECOBET, G.; BAKKER, P. A. H. M.; LOPER, J. E.; LEMANCEAU, P. Microbial antagonism at the root level is involved in the suppression of *Fusarium* by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. **Phytopathology**. St. Paul. v. 89, p. 1073-1079, 1999.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças**. Disponível em: <www.cnph.embrapa.br/cultivares/viradoro.htm>. Acesso em: 26/10/2002.

EPARVIER, A.; ALABOUVETTE, C. Use of ELISA and Gus-transformed stains to study competition between pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* for root colonization. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 4, p. 35-47, 1994.

FAO. **FAOSTAT – Agricultural Statistics Databases**. Rome. Word Agricultural Information Center. Disponível em: <[http:// www.fao.org/waicent/agricult.htm](http://www.fao.org/waicent/agricult.htm)> Acesso em: 30/01/2003.

FRAVEL, D. R.; LARKIN, R. P. Reduction of Fusarium wilt of hydroponically grown basil by *Fusarium oxysporum* strain CS-20. **Crop Protection**. Newcastle. v. 21. p. 539-543, 2002.

FREEMAN, S. F.; ZVEIBIL, A.; VINTAL, H.; MAYMON, M. Isolation of nonpathogenic mutants of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* for biological control of Fusarium Wilt in cucurbits. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, p. 164-168, 2002.

FUCHS, J. G.; MOËNE-LOCCOZ, Y.; DÉFAGO, G. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to Fusarium wilt in tomato. **Plant Disease**. St. Paul. v. 72, p. 1439-1441, 1997.

FUCHS, J. G.; MOËNE-LOCCOZ, Y.; DÉFAGO, G. Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 to protect tomato against Fusarium wilt. **Biological Control** San Diego. v. 14, p. 105-110, 1999.

GARIBALDI, A. Research on substrates suppressive to *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 221, p. 274- 276, 1988.

GARIBALDI, A.; MINUTO, A. Biological and integrated control of Fusarium wilt of cyclamen. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 6., 1993, Montreal. **Abstracts...** Montreal, 1993, p. 274.

GARIBALDI, A.; BRUNATTI, F.; GULLINO, M. L. Suppression of Fusarium wilt of carnation by competitive non-pathogenic strains of Fusaria. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent**, v. 51/2b, p. 633-638, 1986.

GARIBALDI, A.; BRUNATTI, F.; GULLINO, M. L. Evaluation of several antagonists and different methods of applications against Fusarium wilt of carnation. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 17, p. 625-629, 1987.

GARIBALDI, A.; BRUNATTI, F.; CUGDDA, L. Attività antagonistica nei confronti della tracheofusariose del garofano di *Fusaria* non patogeni resistenti a benomyl. **Atti Giornate Fitopatologiche**, Bologna, v. 1, p. 481-490, 1988.

GARIBALDI, A.; GULLINO, M. L.; ALOI, C. Biological control of *Fusarium* wilt of carnation. **EPPO Bulletin**, Paris, v. 17, p. 625-629, 1990a.

GARIBALDI, A.; GUGLIELMONE, L.; GULLINO, M. L. Rhizosphere competence of antagonistic *Fusaria* isolated from suppressive soils. **Symbiosis**, Israel, v. 9, p. 401-404, 1990b.

GARIBALDI, A.; ALOI, C.; PARODI, C.; GULLINO, M. L. Biological control of *Fusarium* wilt of carnation. In: TJAMOS, E. S. **Biological control of plant diseases**. New York: Plenum Press, 1992. p. 105-109.

GEDERMANN, J. W.; FINLEY, A. The pathogenicity of races 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. **Pythopathology**. St. Paul. v. 41, p. 238-244, 1951.

HE, C.Y.; HSING, T.; WOLIN, D. J. Activation of defense responses to *Fusarium* infection in *Asparagus densiflorus*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 473-783, 2001.

HE, C.Y.; HSING, T.; WOLIN, D. J. Induction of systemic disease resistance and pathogen defense response in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Plant Pathology**, London, v. 51, p. 225-230, 2002.

HENDRIX, J. W.; GUO, B. Z.; AN, Z. Q. Divergence of micorrhizal fungal communities in crop production systems. **Plant and Soil**. Hague. v. 170, p. 955-967, 1995.

HERVÁS, A., TRAPERO-CASAS, J. L., JIMENEZ-DIAZ, R. M. Induced resistance against *Fusarium* wilt of chickpea by nonpathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and nonpathogenic isolates of *F. oxysporum*. **Plant Disease**, v. 79, n. 11, p.1110-1116, 1995.

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

HOPKINS, D. L.; LARKIN, R. P.; ELMSTROM, G. W. Cultivar specific induction of suppressiveness to Fusarium wilt of watermelon. **Phytopathology**, St. Paul, v. 77, p. 607-611, 1987.

ISHIBA, C.; TANI, T.; MURATA, M. Protection of cucumber against anthracnose by hypovirulent strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokio, v. 47, p. 352-359, 1981.

JONES, J. P.; WOLTZ, S. S. Fusarium incited diseases of tomato and potato and their control. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. **Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy**. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1981. p. 157-168.

JONES, J. P. Fusarium wilt. In: JONES, J. B. et al. **Compendium of tomato diseases**. St. Paul: APS Press, 1991. p. 15.

KLOEPPER, J. W.; LEONG, J.; TEINTZE, M.; SCHROTH, M. N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promotion rhizobacteria. **Nature**, London, v. 286, p. 885-886, 1980.

KLOEPPER, J. W.; ZEHNDER, G. W.; TUZUN, S.; MURPHY, J. F.; WEI, G.; YAO, C.; RAUPACH, G. Toward agricultural implementation of PGPR mediated induced resistance against crop pests. In: WENHUA, T.; COOK, R. J.; ROVIRA, A. **Advances in biological control of plant diseases**. Beijing: China Agricultural University Press, 1996. p. 165-174.

KUROZAWA, C.; TOKESHI, H. Determinação de raças fisiológicas de *Fusarium* do tomateiro de Pernambuco. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 23, p. 211-215, 1966.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Distribuição de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (WR) Snyder & Hansen no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica** Piracicaba, v. 8, p. 153-160, 1982.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. P. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Ed. Ceres, 1997. v. 2, p. 690-719.

LARKIN, R. P.; FRAVEL, D.R. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. **Plant Disease**, St. Paul, v. 82, p. 1022-1028, 1998.

LARKIN, R. P.; FRAVEL, D. R. Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of Fusarium wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, p. 1152-1161, 1999.

LARKIN, R. P.; HOPKINS, D. L.; MARTIN, F. N. Effect of successive watermelon plantings on *Fusarium oxysporum* and other microorganisms in soils suppressive and conducive to Fusarium wilt of watermelon. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, p. 1097-1105, 1993a.

LARKIN, R. P.; HOPKINS, D. L.; MARTIN, F. N. Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in soils suppressive and conducive to Fusarium wilt of watermelon. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, p. 1105-1116, 1993b.

LARKIN, R. P.; HOPKINS, D.L.; MARTIN, F.N. Suppression of Fusarium wilt of watermelon by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, p. 812-819, 1996.

LEMANCEAU, P.; ALABOUVETTE, C. Biological control of Fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. **Crop Protection**, Newcastle, v. 10, p. 279-286, 1991.

LEMANCEAU, P.; BAKKER, P. A H. M.; DE KOGEL, W. J.; ALABOUVETTE, C.; SCHIPPERS, J. Antagonistic effect of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and

Pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, p. 74-82, 1993.

LEMANCEAU, P.; CORBERAND, T.; GARDAN, L.; LATOUR, X.; LAGUERRE, G.; BOEUFGRAS, J. M.; ALABOUVETTE, C. Effect of two species, flax (*Linum usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads. **Applied Environmental Microbiology**. Washington, v. 61, p. 1104-1012, 1995.

LOPES, C. A.; SANTOS, J. R. M. **Doenças do tomateiro**. Brasília: EMBRAPA – CNPH/SPI, 1994, 61p.

LOPES, C. A.; SANTOS, J. R. M.; AVILA, A. C.; BEZERRA, I. C.; CHARCHAR, J. M.; QUEZADO-DUVAL, A. M. Doenças: identificação e controle. In: SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia. Embrapa – CNPH. 2000. p. 88-111.

LOUVET, J.; ROUXEL, F.; ALABOUVETE, C. Recherches sur la résistance des sol aux maladies. 1-Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance d'un sol au développement de la fusariose vasculaire du melon. **Annales de Phytopathologie**, Paris, v. 8, p. 425-436, 1976.

LOUVET, L.; ALABOUVETTE, C.; ROUXEL, F. Microbiological suppressiveness of some soil to Fusarium wilts. In: NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; COOK, R. J. **Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy**. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1981. p. 261-275.

LUMSDEN, R. D.; GARCIA, E. R.; LEWIS, J. A.; FRÍAS-T, G. A. Suppression of damping-off caused by *Pythium* spp. in soil from the indigenous Mexican Chinampa agricultural system. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 19, p. 501-508, 1987.

MANDEEL, Q.; BAKER, R. Mechanisms involved in biological control of Fusarium wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81 p. 462-469, 1991.

MAO, W.; LUMSDEN, R.D.; LEWIS, J.A.; HEBBAR, P.K. Seed treatment using pre-infiltration and biocontrol agents to reduce damping-off of corn caused by species of *Pythium* and *Fusarium*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, p. 294-299, 1998.

MATSUOKA, K.; CHAVES, G. M. Identificação de raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen em Minas Gerais e seleção de tomateiros resistentes à raça 1 do patógeno. **Experientiae**, Viçosa, v. 15, p. 257-289, 1973.

MINUSSI, E. Raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (WR) Snyder & Hansen que ocorrem em Santa Maria, RS. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 8, p. 207-211, 1972.

MINUTO, A.; MIGHELI, Q.; GARIBALDI, A. Evaluation of antagonistic strains of *Fusarium spp.* in the biological and integrated control Fusarium wilt of cyclamen. **Crop Protection**, Newcastle, v. 14, p. 221-226, 1995a.

MINUTO, A.; MOCIONI, M.; GARIBALDI, A. Preliminary trials on biological control of Fusarium wilt of basil. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 382, p. 173-177, 1995b.

MINUTO A.; MINUTO, G.; MIGUELI, Q.; MOCIONI, M.; GULLINO, M. L. Effect of antagonistic *Fusarium spp.* and of different commercial biofungicides formulations on Fusarium wilt of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Crop Protection**, Newcastle, v. 16, p. 765-769, 1997.

MOURA, R. M.; TORRES, R. C.; PEDROSA, E. M. R.; GUIMARÃES, L. M. P. Estudo da interação *Meloigogyne-Fusarium* em tomateiro portador do gene MI em condições de temperaturas altas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 500, 2001.

NASH, S. M.; SNYDER, W. C. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. **Phytopathology**, St. Paul, v. 52, p. 567-572, 1962.

NEDER, R. N.; DIAS, M. S.; VENCOVSKY, R.; IKUTA, H. Ensaio de virulência de 33 isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen. In: REUNIÃO ANUAL

DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 16., 1964, Ribeirão Preto. **Anais...** São Paulo: SBPC, 1964. p. 21-23.

OGAWA, K.; KOMADA, H. Biological control of Fusarium wilt of sweet potato by nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokio, v. 50, p. 1-9, 1984.

PARK, C. S.; PAULITZ, T. C.; BAKER, R. Biocontrol of Fusarium wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 190-194, 1988.

PAULITZ, T. C.; PARK, C. S.; BAKER, R. Biological control of Fusarium wilt of cucumber with nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 33, p. 349-353, 1987.

PEREIRA, G. F. A.; MARANHÃO, E. H. A.; MENEZES, M. Caracterização de raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, no Estado de Pernambuco. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 19, p. 43, 1993.

PHARAND, B.; CARISSE, O.; BENHAMOU, N. Cytological aspects of compost-mediated induced resistance against Fusarium crown and root rot in tomato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, p. 424-438, 2002.

POSTMA, J.; RATTINK, H. Biological control of Fusarium wilt of carnation with a non-pathogenic isolate of *Fusarium oxysporum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 70, p. 1199-1205, 1992.

REID, T. C.; HAUSBECK, M. K.; KIZILKAYA, K. Use of fungicides and biological control in the suppression of Fusarium crown root rot of asparagus under greenhouse and growth chamber conditions. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, p. 493-498, 2002.

RIBEIRO, R. L. D.; SILVA, A. M. S.; PEREIRA, A. J.; AKIBA, F.; CARVALHO, A. O.; ARAUJO, J. S. P. Nova raça de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em lavouras de tomateiro no Estado do Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 321, 1999.

RODRIGUES, E. J. R.; JULIATTI, F. C. Ocorrência da raça 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* na região de Uberlândia, MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, p. 122, 1990.

ROUXEL, F.; ALABOUVETTE, C.; LOUVET, J. Recherches sur la resistance des sols aux maladies. IV. Mise en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la resistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. **Annales de Phytopathologie**, Paris, v. 11, p. 199-207, 1979.

SANTOS, J. R. M.; LOPES, C. A.; LIMA, B. J. C. Cultivares de tomateiro diferenciadoras de raças de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 27-29, 1993.

SAS Institute INC. **SAS Statistical analysis System** (software). SAS/Stat® User's Guide, Version 8. Cary. SAS Institute, 1999, p. 1162-1165.

SCHNEIDER, R. W. Effects of nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* and a novel use of the Lineweaver-Burk double reciprocal plot technique. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, p. 646-653, 1984.

SCHER, F. M.; BAKER, R. Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, p. 1567-1573, 1980.

SCHER, F. M.; BAKER, R. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, p. 1567-1573, 1982.

SCHROTH, M. N.; HANCOCK, J. G. Disease suppressive soils and root colonizing bacteria. **Science**, Washington, v. 216, p. 1376-1381, 1982.

SMITH, S. N.; SNYDER, W. C. Relationship of inoculum density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, p. 1049-1051, 1972.

SMITH, S. N.; SNYDER, W. C. Germination of *Fusarium oxysporum* chlamydospores in soil favorable and unfavorable to wilt establishment. **Phytopathology**, St. Paul, v. 273-277, 1973.

SNEH, B.; DUPLER, M.; ELAD, Y.; BAKER, R. Chlamyospore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* as affects by fluorescent and lytic bacteria from a Fusarium-suppressive soil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, p. 1115-1124, 1984.

STOZKY, G.; MARTIN, T. Soil mineralogy in relation to the spread of Fusarium wilt of banana in Central America. **Plant and Soil**. v. 18, p.317-337, 1963.

STUTZ, E. W.; DÉFAGO, G.; KERN, H. Naturally occurring fluorescent *Pseudomonas* involved in suppression of black root to tobacco. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, p. 181-185, 1986.

TAMIETTI, G.; ALABOUVETTE, C. Résistance des sols aux maladies: XIII – Rôle des *Fusarium oxysporum* nonpathogènes dans les mécanismes de résistance d'un sol de Noirmoutier aux fusarioses vasculaires. **Agronomie**. Paris. v. 6, p. 541-548, 1986.

TAMIETTI, G.; PRAMOTTON, R.. La receptive des sols aux fusarioses vasculaires: Rapports entre resistance et microflora authochtone avec reference particulare aux *Fusarium* nonpathogenes. **Agronomie**, Paris, v. 10, p. 69-76, 1990.

TAMIETTI, G.; FERRARIS, L.; MATTA, A.; GENTILE, I. A. Physiological responses of tomato plants grown in Fusarium suppressive soil. **Journal of Phytopathology**. Berlin, v. 138, p. 66-76, 1993.

TOKESHI, H., GALLI, F. Variabilidade de *Fusarium* f. *lycopersici* Sny & Hans em São Paulo. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, Piracicaba, v. 23, p.217-227, 1966.

TOKESHI, H. **Murcha de Fusarium em tomateiro: Estudo da variabilidade do patógeno e hospedeiro**. 1966. 67 p. Tese (Livre Docência em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1966.

TRAMIER, R.; PIONNAT, J.C.; TEBIBEL, N. Role of the fungi in the induction of suppressiveness into substrates to Fusarium wilt of carnation. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 141, p. 55-59, 1983.

VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L.; PAUL, P. A.; COSTA, H. Doenças causadas por fungos em tomate. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas – hortaliças**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. p. 699-756.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; SÔNEGO, O. R. Uso de rizobactéria e *Fusarium solani* no controle integrado da Fusariose da videira. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 7., 2001, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2001. 107p.

WELLER, D. M. Biological control of soilborne pathogens in the rizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 379-407, 1988.

WYMORE, L. A.; BAKER, R. Factors affecting cross-protection in control of *Fusarium* wilt of tomato. **Plant Disease**, St. Paul, v. 66, p. 908-910, 1982.

YAMAGUSHI, K.; SANO, T.; ARITA, M.; TAKAHASHI, M. Biocontrol of *Fusarium* wilt of tomato and *Verticillium* wilt of eggplant by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* MT0062. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, Tokio, v. 58, p. 188-194, 1992.