EFEITO DE FUNGICIDAS SOBRE OS FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS *Disolithus tinctorius* E *Thelophora terrestris* E
AÇÃO SISTÊMICA DE BENOMYL EM MUDAS DE
Pinus caribaea VAR. *hondurensis*

MARIA MARLY DE LOURDES SILVA SANTOS

Orientador: Prof. Dr. TASSO LEO KRÜGNER

Tese apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de
concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1984

À minha mãe,
meu esposo e
meus filhos: Andrêa,
Alessandra, Eduardo,
Junior e Ana Paula,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- A Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, pela oportunidade concedida.

- Ao Dr. Tasso Leo Krü^gner, pelo apoio, ensinamentos e orientação.

- Ao Dr. Jairo Granado Santos, pelo apoio e incentivo, o meu agradecimento especial.

- Aos amigos Drs. Lindáurea Alves de Souza Menten e José Otávio Machado Menten, pela amizade, atenção e sugestões.

- Ao colega Dr. Cláudio Costa, pela elaboração da versão para o inglês,

- A Sra. Sônia Novaes Rasera, pelos serviços datilográficos.

- Aos colegas e amigos do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, pela amizade e colaboração.

- A todos que de alguma forma contribuíram para o êxito deste trabalho.

ÍNDICE

	<u>página</u>
RESUMO	vi
SUMMARY	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Associações micorrízicas; generalidades	4
2.2. <i>Thelephora terrestris</i>	7
2.3. <i>Pisolithus tinctorius</i>	8
2.4. Efeitos de fungicidas em fungos ectomicorrí- zicos	12
2.5. Efeito sistêmico dos fungicidas	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Efeito de fungicidas sobre os fungos micorrí- zicos	24
3.1.1. Efeito de fungicidas <i>in vitro</i> sobre o crescimento micelial de <i>Pisolithus</i> <i>tinctorius</i> e <i>Thelephora terrestris</i> ..	24
3.2. Efeito de fungicidas sobre as micorrizas em mudas de <i>Pinus</i> , causadas por <i>Thelephora ter-</i> <i>restris</i>	28
3.3. Efeito sistêmico de benomyl sobre mudas de <i>P. caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	31
4. RESULTADOS	34
4.1. Efeito de fungicidas sobre os fungos micorrí- zicos	34

4.1.1. Efeito de fungicidas <i>in vitro</i> sobre o crescimento micelial de <i>Pisolithus tinctorius</i> e <i>Thelephora terrestris</i>	34
4.2. Efeito de fungicidas sobre as micorrizas for- madas de <i>T. terrestris</i> em mudas de <i>Pinus cari- baea</i> var. <i>hondurensis</i>	51
4.3. Efeito sistêmico de benomyl em mudas de <i>P. ca- ribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	59
5. DISCUSSÃO	64
6. CONCLUSÕES	71
7. LITERATURA CITADA	73

EFEITO DE FUNGICIDAS SOBRE OS FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS

Pisolithus tinctorius E *Thelephora terrestris* E AÇÃO

SISTÊMICA DE BENOMYL EM MUDAS DE

Pinus caribaea var. *hondurensis*

Autor: Maria Marly de Lourdes Silva Santos

Orientador: Tasso Leo Krüger

RESUMO

Foram avaliados os efeitos dos fungicidas benomyl, captan, oxicleto de cobre, captafol, oxicarboxin, PCNB, thiram, terrazol, carboxin e mancozeb nas concentrações de 1, 10 e 100 ppm sobre o crescimento micelial dos fungos ectomicorrízicos *P. tinctorius* e *T. terrestris*. Os fungicidas mais tóxicos foram PCNB, thiram e carboxin, os quais inibiram os fungos nas três dosagens usadas. Benomyl e terrazol apresentaram um efeito estimulante na concentração de 1 ppm sobre *P. tinctorius*. Nos demais casos, quando houve efeito, este foi moderado.

Foi analisado também o efeito de benomyl, captan, PCNB, mancozeb e thiram sobre a formação de ectomicorri

zas em mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* inoculadas artificialmente com *T. terrestris*. A formação de ectomicorriza foi altamente estimulada por benomyl, onde 68% das raízes laterais curtas apresentaram-se micorrizadas e no tratamento com captan 22%. Mancozeb e thiram, apresentaram uma porcentagem muito baixa de micorriza (4% e 6%, respectivamente). PCNB teve um efeito negativo na simbiose, evitando a formação de ectomicorriza.

Foi estudado o efeito sistêmico de benomyl em mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis*, utilizando-se como fungo teste *Cylindrocladium pteridis* que apresentou sensibilidade a 0,2 ppm desse fungicida em batata-dextrose-agar. Em testes realizados 10 e 20 dias após a última aplicação do fungicida no solo, evidenciou-se a translocação ascendente do produto, sendo o mesmo detectado em maior quantidade na raiz (10 dias) e no caule e acículas (20 dias), havendo uma distribuição mais ou menos uniforme do produto dentro da planta, evidenciando assim que os tratamentos para controle da queima de acículas causada por *C. pteridis* pode ser feito com aplicação de benomyl no solo.

EFFECT OF FUNGICIDES ON THE ECTOMYCORRHIZAL FUNGI
Pisolithus tinctorius AND *Thelephora terrestris*
AND SYSTEMIC ACTION OF BENOMYL ON SEEDLINGS OF
Pinus caribaea var. *hondurensis*

Author: Maria Marly de Lourdes Silva Santos

Adviser: Tasso Leo Krüger

SUMMARY

The effects of benomyl, captan, copper oxichloride, captafol, oxicarboxin, PCNB, thiram, terrazol, carboxin and mancozeb on the mycelial growing of the ectomycorrhizae fungi *P. tinctorius* and *T. terrestris*, were studied at the concentrations of 1, 10 and 100 ppm. PCNB, thiram and carboxin were the most toxic fungicides against both fungi. They were highly inhibitory at all concentrations tested. Benomyl and terrazol showed stimulant effect on *P. tinctorius* at the concentration of 1 ppm. Others effects for others fungicides and concentration, if occurred were slight.

It was also analysed the effect of benomyl, captan, PCNB, mancozeb and thiram on the ectomycorrhizal

formation in *P. caribaea* var. *hondurensis* seedlings artificially inoculated with *T. terrestris*. Ectomycorrhizal formation was highly stimulated by benomyl. For this fungicide 68% of the feeder roots showed mycorrhizae and for captan 22%. Mancozeb and thiram presented a very low mycorrhizal formation (4% and 6% respectively). PCNB had a negative effect on symbiosis, preventing ectomycorrhizal formation.

It was studied the systemic effect of benomyl on *P. caribaea* var. *hondurensis* seedlings by using *Cylindrocladium pteridis* as the test fungus that showed sensitivity at 0.2 ppm to this fungicide in potato-dextrose-agar medium. 10 and 20 days after the soil application of the fungicide, it was observed the ascendent translocation of the product. It was detected in higher amount in the root (10 days), and stem and needles (20 days) leading to quite homogeneous distribution of the product inside the plant. It was shown that *Cylindrocladium* needle blight of pine can be controlled by the application of benomyl in the soil.

1. INTRODUÇÃO

Na formação de mudas de *Pinus*, as pesquisas têm mostrado a importância do desenvolvimento micorrízico, não somente no crescimento das plântulas, como também na absorção de nutrientes e água do solo, na proteção de raízes contra o ataque de patógenos presentes no solo e maior tolerância às condições adversas (LAMB e RICHARDS, 1970; KRÜGNER, 1982).

Sendo as espécies tropicais de pinheiros dependentes das ectomicorrizas para um desenvolvimento adequado, muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos, procurando-se, em termos de produção de mudas, fornecer informações sobre a potencialidade para empregos práticos, com a introdução de fungos micorrízicos em áreas novas de reflorestamento e em solos de baixa fertilidade, através da inoculação arti-

ficial. Entre os fungos ectomicorrízicos, *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker e Couch e *Thelephora terrestris* Ehr. ex. Fr. destacam-se pelo crescimento em meio de cultura, disseminação eficiente e adaptação às condições ambientes (MARX, 1976; KRÜGNER, 1982).

A formação de mudas com ótima quantidade de micorrizas, não pode ser afetada por produtos químicos usados para o controle de doenças, que causam sérios problemas principalmente em viveiros, como a "Queima de Acículas" causada por *Cylindrocladium pteridis*, doença constatada nos Estados do Pará e Bahia afetando *Pinus caribaea* var. *hondurensis* e mais recentemente no Amapá, atacando *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa* (KRUGNER, 1980).

Existem vários produtos fungicidas capazes de controlar satisfatoriamente doenças de viveiros, porém, muitos deles, agem de modo a interferir na formação da micorriza (MARX e ROWAN, 1981). Muitos fungicidas usados possuem apenas ação de contato, e não são capazes de penetrar na planta em quantidades efetivas, sendo facilmente lavados pelas chuvas, o que exige aplicações repetidas onerando o custo de produção e a dificuldade de controle. Devido a esta ação, os fungicidas sistêmicos dispensam aplicações repetidas pela capacidade de se translocarem livremente no interior da planta (WAIN e CARTER, 1972).

Atualmente, diversos fungicidas sistêmicos são usados, porém o benomyl destaca-se por apresentar um amplo espectro de ação associado a capacidade de absorção pela planta, a translocação e estabilidade no interior da planta, principalmente quando sua ação é requerida em tecidos ou órgãos distantes do ponto de aplicação (EDGINGTON *et alii*, 1971).

Considerando o efeito de fungicidas no controle de doenças de *Pinus*, sem afetar a formação de micorrizas, o presente trabalho apresenta como objetivos principais:

- a. estudar o efeito de fungicidas sobre o crescimento dos fungos ectomicorrízicos *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*, em meio de cultura.
- b. avaliar o efeito de fungicidas sobre a formação de micorrizas em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.
- c. verificar o efeito sistêmico do fungicida benomyl em mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis* no controle de *Cylindrocladium pteridis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Associações micorrízicas em *Pinus*: generalidades

As associações micorrízicas ocorrem em plantas superiores em quase todo o mundo, e plantas que não interagem com estes fungos simbiontes constituem uma exceção na natureza (MARX e BRYAN, 1975). Isso levou WILHELM (1966) e KORMANIK *et alii* (1977) afirmarem que em condições de campo as plantas não desenvolvem raízes e sim micorrízicas, pois somente algumas famílias de plantas como crucíferas, quenopodiáceas e plantas aquáticas não formam estas associações simbióticas.

Os fungos micorrízicos são componentes habituais da porção do solo limitada pelas raízes, onde as condições físicas, químicas e biológicas, motivadas pela presença das raízes, exercem efeitos notáveis no equilíbrio qualitati-

vo e quantitativo da população microbiana, diferindo substancialmente dos solos desprovidos de vegetação (THEODOROU, 1967; RICHARDS, 1961).

PEYRONEL *et alii* (1969) classificaram as micorrizas de acordo com o arrançamento das hifas nas células do córtex da raiz em: (a) endomicorrizas, quando as estruturas do fungo se desenvolvem intracelularmente; (b) ectomicorrizas, quando as hifas do fungo se desenvolvem intercelularmente formando a rede de Hartig; e (c) ectoendomicorrizas, quando o fungo se desenvolve inter e intracelularmente.

Em essências florestais, a literatura relata o fracasso da introdução de *Pinus* em diversos países do mundo na ausência de fungos micorrízicos (CONDORI, 1964; BAKSHI e KUMAR, 1968; MARX *et alii*, 1978), sendo o de Porto Rico a mais conhecida; pois, com base nos resultados negativos obtidos durante longo período de tempo, os autores concluíram que, a falta de fungos micorrízicos seria limitante para o crescimento e sobrevivência de mudas (BRISCOE, 1959).

MIKOLA (1969), após uma viagem científica por cerca de 20 países, elaborou um documento sobre a importância e técnicas da inoculação micorrízica em essências florestais, e a partir das linhas de pesquisas propostas por Mikola, foram iniciados estudos que proporcionaram o desenvolvimento de novas técnicas nas pesquisas com os fungos ectomi-

corrízicos.

Os insucessos de programas de reflorestamento com *Pínus*, plantados como exóticas, mostraram que as mudas no campo não sobrevivem ou não crescem normalmente se não estiverem com adequado desenvolvimento de micorrizas por ocasião do plantio, e paralelamente à introdução da espécie florestal, há a necessidade de se introduzir os seus fungos micorrízicos, os quais não ocorrem naturalmente nestas áreas (KRÜGNER, 1982). Uma introdução aleatória leva a não observação de certos aspectos importantes na simbiose fungo-raiz para a espécie (BOWEN e THEODOROU, 1973; MARX, 1976).

Dentre os fungos ectomicorrízicos, os trabalhos se concentraram principalmente nas associações micorrízicas de *Thelephora terrestris* e *Pisolithus tinctorius* com *Pínus*, por apresentarem esses fungos grande capacidade de adaptação em condições adversas, facilidade de cultivo em meio de cultura, capacidade reprodutiva, disseminação eficiente e grande eficiência (MARX e BRYAN, 1975; MARX, 1975/1976).

TOMAZELLO FILHO (1980) mostrou que, em condições de viveiro, as mudas das espécies tropicais de *Pínus* com ectomicorrizas de *T. terrestris* e *P. tinctorius* apresentaram maior desenvolvimento do que as plantas não micorrizadas, não ocorrendo diferenças entre os dois fungos.

Os problemas de reflorestamento na Índia, foram sanados após a colonização adequada das mudas de *Pinus* por fungos ectomicorrízicos (THAPAR e PALIWAL, 1982).

2.2. *Thelephora terrestris*

O fungo ectomicorrízico *T. terrestris* foi descrito primeiramente como patógeno em viveiros florestais (HACSKAYLO, 1965), embora já houvesse citação feita por WEIR (1921) de que, através de exames efetuados em mudas de *Pinus* sp. envolvidas por frutificações do fungo, os tecidos vivos não se apresentavam invadidos.

ZAK e MARX (1964) observaram a infecção natural de *T. terrestris* em canteiros de *Pinus elliottii* var. *elliottii*, constituindo na primeira constatação do simbiote em raízes da espécie.

HACSKAYLO (1965) estudou mais detalhadamente a associação micorrízica natural entre *T. terrestris* e *P. virginiana*, observando as características da rede de Hartig e do manto de hifas. Anos mais tarde, FASSI e FONTANA (1966) descreveram *T. terrestris* associando-se com *Pinus strobus*, em levantamentos realizados em viveiros florestais na Itália.

Através de estudos efetuados por MARX e BRYAN

(1969), *T. terrestris* foi considerado o primeiro colonizador simbiote de solos recém-esterilizados, e levantamentos efetuados por MARX e BRYAN (1970) constataram que 21 espécies de *Pinus* se associaram com *T. terrestris* para formação de micorrizas.

As pesquisas efetuadas mostram que os basidiosporos são as estruturas de disseminação e inoculação de *T. terrestris* (MARX e ROSS, 1970).

2.3. *Pisolithus tinctorius*

O fungo ectomicorrízico *P. tinctorius* somente nas últimas décadas teve sua importância reconhecida como um simbiote com essências florestais, apesar de que desde 1928 sua ocorrência já era citada, porém, não o associando com raízes de plantas (TRAPPE, 1962).

LAMPKY e PETERSON (1963) coletaram basidiocarpos de *P. tinctorius* associados com *P. banksiana* em condições adversas, em solo degradado por atividades de mineração, com elevada acidez e quantidades insignificantes de matéria orgânica. Frutificações de *P. tinctorius* foram encontradas por LOWY (1964) associadas ou próximas de *P. taeda*, *P. caribaea* e *Quercus virginiana*, também em condições adversas, em solos estéreis e teores de matéria orgânica extremamente baixos; posteriormente, LAMPKY e LAMPKY (1973) encontraram fru-

tificações do fungo próximas de *P. palustris* cultivadas em solo arenoso.

A fim de avaliar os hospedeiros de *P. tinctorius*, MARX e BRYAN (1970) estudaram dezenove espécies de coníferas em solo infestado com este fungo, e destas, quatorze formavam micorrizas morfológicamente semelhantes em todas as espécies de *Pinus*; os autores afirmam no trabalho que a falta de ocorrência de micorrizas em algumas espécies estariam relacionada com fatores externos afetando a simbiose.

Levantamento mais detalhado sobre a ocorrência de *P. tinctorius* e as essências florestais que se associam com este simbiote, foi efetuado por GRAND (1976) tendo sido encontrado em 36 estados americanos e 14 países, associados com 11 gêneros florestais, em variados tipos de solo, porém com maior frequência em solos pobres. Completando o levantamento anterior, MARX (1977) encontrou o fungo em 33 países, representando todos os continentes, e em 38 estados americanos.

P. tinctorius é um fungo que apresenta bom desenvolvimento sob condições adversas, isto é, alta temperatura do solo, solo com fertilidade baixa e com reação ácida de pH, se adaptando bem e promovendo rápido crescimento de mudas de *Pinus* (SCHRAMN, 1966; MARX *et alii*, 1970; MARX, 1977).

As pesquisas mostram a utilidade da inoculação artificial das mudas de *Pinus* com fungos micorrízicos específicos, a qual promove maior crescimento e sobrevivência das plantas, devido a dependência destas com as micorrizas, tendo-se verificado em várias oportunidades, inclusive no Brasil, perdas de plantios inteiros por falta de adequada formação de micorrizas nas mudas plantadas (KRÜGNER, 1982).

A infestação do solo em viveiros florestais com *P. tinctorius*, teve início com MARX e BRYAN (1975), com resultados bastante promissores, pois mudas de *P. taeda* cultivadas em solo infestado artificialmente com micélio do fungo, um mês após a emergência já se apresentavam micorrizadas e no final do experimento 90% das raízes curtas apresentaram micorrizas e com peso de matéria seca duas vezes maior do que os demais tratamentos. O fungo sobreviveu no solo na ausência do hospedeiro e conservou a capacidade de induzir micorrizas, quando o solo foi normalmente utilizado.

BERRY e MARX (1976) obtiveram um desenvolvimento significativo das mudas de *P. Taeda* e *P. echinata* inoculadas artificialmente com *P. tinctorius*, em relação as não inoculadas, e MARX *et alii* (1977) verificaram a sobrevivência e crescimento significativamente superiores para *Pinus taeda*, *P. strobus*, *P. virginiana*, *P. elliottii* var. *elliottii* com inoculação artificial do micélio de *P. tinctorius* no solo, em comparação com a micorrização natural formada por *T. ter-*

restris.

Para as condições brasileiras, KRUGNER e TOMAZELLO FILHO (1980), TOMAZELLO FILHO (1980), TOMAZELLO FILHO e KRUGNER (1981) e KRUGNER (1982), observaram que mudas de *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *bahamensis*, inoculadas com *P. tinctorius*, apresentaram significativa superioridade em relação a *T. terrestris* e a testemunha; e para *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. kesya* não houve diferença entre os dois fungos testados.

Este importante aspecto de que, para determinadas condições ambientes, as micorrizas formadas por certas espécies de fungos são mais benéficas para uma determinada espécie florestal de que as formadas por outras espécies de fungos, foi verificada por MARX e BRYAN (1971), e em condições brasileiras é enfatizada por KRÜGNER (1982).

Estas e outras observações mostraram a utilidade da inoculação artificial das mudas de *Pinus* com fungos específicos, devido as desvantagens apresentadas pelo inóculo natural (KRÜGNER, 1982), e a partir de 1976, o Instituto para Pesquisa de Micorriza do Serviço Florestal Americano, passou a produzir uma fonte comercial de *P. tinctorius* para inoculação artificial, já tendo sido obtidos resultados animadores (MARX *et alii*, 1982).

2.4. Efeitos de fungicidas em fungos ectomicorrízicos

As doenças em viveiros florestais trazem sensíveis perdas para os programas de reflorestamento, fazendo com que se procure uma forma de controle. Diferentes fungicidas são usados no controle de doenças de viveiros, mas muitos deles afetam o desenvolvimento da micorriza inibindo ou estimulando seu desenvolvimento (BAKSHI e DOBRIYAL, 1970; HONG, 1976; MARX e ROWAN, 1981).

POWELL *et alii* (1968), ao usarem captan para controlar a população de *Pythium* do solo, observaram que este fungicida estimulou o crescimento de ectomicorriza formada naturalmente por *Scleroderma bovista*.

BAKSHI e DOBRIYAL (1970) observaram que captan e PCNB usados para controlar "damping off" em viveiros de *Pinus caribaea*, evitaram o desenvolvimento da ocorrência natural de ectomicorrizas durante o período de tempo em que perdurou a efetividade do produto no solo,

O fungicida benomyl ao ser usado na Malásia em mudas de *Pinus patula*, não mostrou nenhum efeito sobre ectomicorrizas, enquanto que chlorothalomil e thiram suprimiram a formação de micorrizas, as quais foram estimuladas por captan e captafol (HONG, 1976).

Sementes inoculadas com basídiosporos de fun-

gos ectomicorrízicos e tratadas posteriormente com captan, zineb e thiram, tiveram inibidos o desenvolvimento desses fungos em mudas de *P. radiata* (THEODOROU e SKINNER, 1976). Os autores discutem que fungicidas aplicados desta maneira aparentemente eliminam o fungo teste, mas não possuem efeito sobre o desenvolvimento das ectomicorrizas formadas pela ocorrência natural, confirmando a afirmativa de Laiho e Mikola (1964), citados por MARX e ROWAN (1981), quando dizem que PCNB inibiu o crescimento do fungo ectomicorrízico em meio de cultura, porém, não alterou o desenvolvimento da ocorrência natural da micorriza em mudas de *Pinus*.

Comparação entre testes efetuados em laboratório e em viveiro, foi também feita por MARX e ROWAN (1981) onde os autores observaram que o micélio de *P. tinctorius* e *T. terrestris* são mais afetados por fungicidas no meio de cultura do que no solo. No experimento instalado em viveiro, foram usados os fungicidas captan, benomyl, PCNB e benodanil em solo fumigado e inoculado com *P. tinctorius* e *Thelephora terrestris*, e houve melhor desenvolvimento de mudas e produção de basidiocarpos nos tratamentos com benomyl e captan do que na testemunha, enquanto que um menor efeito houve no tratamento com benodanil, enquanto PCNB não teve efeito sobre a formação de micorrizas.

PAWUK *et alii* (1980) mostraram que o desenvolvimento de ectomicorrizas em mudas de *Pinus palustris* foi

completamente inibido por terraclor, reduzido por captan e fenaminosulfa, e estimulado por benomyl.

KAIS *et alii* (1981) estudaram o efeito de benomyl e *P. tinctorius* na sobrevivência e crescimento de *P. palustris*, e verificaram que benomyl aumentou a ectomicorriza com um crescimento rápido das raízes, havendo um efeito de sinergismo entre o fungo e o fungicida, efeito esse que já havia sido observado por PAWUK *et alii* (1980).

O fungicida triadimefon foi usado por KELLEY (1982) em testes com fungos ectomicorrízicos realizados em laboratório e campo. Nos testes de laboratório *P. tinctorius* foi o mais sensível, com diminuição de 50% na sua taxa de crescimento à concentração de 1 µg/ml, não havendo crescimento na concentração de 5 µg/ml. Em viveiro houve a ocorrência de basidiocarpo, mesmo em mudas de *P. tinctorius* que foi o fungo mais sensível ao produto.

2.5. Efeito sistêmico do benomyl

A primeira citação sobre estudos de absorção e translocação de um composto em plantas foi feita por KENT (1941) onde foram usados sais de lítio aplicado no sistema radicular para controlar ferrugem da folha do trigo, visando a translocação de produtos químicos em plantas foram os

antibióticos os produtos mais utilizados.

Nos anos subsequentes, poucos foram os trabalhos realizados sobre o assunto, o qual voltou a merecer atenção na década de 50 com os estudos realizados por PRAMER (1953) e VAN DIEPEN (1960) sobre translocação de antibióticos em cucurbitáceas; porém, sobre translocação de fungicidas em plantas os estudos vêm sendo realizados há cerca de quinze anos, a maioria deles com plantas herbáceas, pois, segundo SHEPARD (1972), devem existir barreiras mais fortes que impeçam uma boa translocação em plantas lenhosas.

Na atualidade, no controle de doenças de plantas os fungicidas sistêmicos adquiriram grande importância, e entre estes destaca-se o benomyl por seu amplo espectro de ação. O primeiro relato da eficiência deste fungicida foi feito por DELP e KLOPPING (1968), que constataram no benomyl propriedades preventivas, curativas e sistêmicas, contra certos fungos, bem como efeito contra ácaros.

CONNOR e HEUBERGER (1968) confirmaram a permanência do princípio fungitóxico do benomyl na planta por um tempo relativamente longo, ao pulverizarem folhagens de macieiras com benomyl, havendo até a primavera seguinte completa inibição da formação de peritécios de *Venturia inaequalis*.

CLEMONS e SISLER (1969) mostraram que benomyl (metil-1-butilcarbamil-2-benzimidazol carbamato) hidroliza-

-se rapidamente para metil-2-benzimidazol carbamato metil ester (MBC), quando em solução aquosa. O estudo foi realizado através de cromatografia de camada delgada e permitiu concluir que MBC é um composto fungitóxico, quimicamente mais simples e mais estável, e como os efeitos aintifúngicos do benomyl e do MBC são semelhantes, acreditam que o benomyl atue somente após sua conversão em MBC.

Para reforçar essa teoria, ROUCHAUD e DECALLO NE (1974), efetuando análise de resíduo de benomyl em plantas de melão e em solo, através da técnica da cromatografia gasosa, encontraram apenas MBC, nada tendo sido detectado do composto original, embora, a técnica empregada apresentasse uma certa sensibilidade.

PETERSON e EDINGTON (1970) relataram a rápida transformação do benomyl em MBC, quando em solução aquosa ou em tecido foliar de feijoeiro que recebeu o fungicida junto ao sistema radicular.

O benomyl é um fungicida que apresenta amplo espectro de ação, segundo EDGINGTON *et alii* (1971), embora importantes grupos de fitopatôgenos sejam insensíveis a esse composto, como é o caso dos Basidiomicetos, e dos Deuteromicetos que apresentam esporos pigmentados. Além destes, os fungos inferiores, incluindo Oomicetos, são também insensíveis.

Segundo SHEPARD (1972) a eficiência dos compostos sistêmicos está associada com a capacidade de absorção, translocação e estabilidade dos mesmos no interior da planta, principalmente quando sua ação é requerida em tecidos ou órgãos distantes do ponto de aplicação do composto. O autor argumenta da possibilidade de ser feita apenas uma aplicação do fungicida sistêmico durante uma estação toda, ao invés de pulverizações com intervalos de 7 a 14 dias, considerando que quantidades de fungicidas aplicados semanalmente poderiam ser suficiente para muitos meses, havendo porém necessidade de novos conhecimentos para obtenção de melhores produtos, ou que se possa fazer uso mais racional dos já existentes.

Quase que simultaneamente ao relato da atividade sistêmica do benomyl, surgiu o problema da resistência em fungos causada por este fungicida, com diversas citações na literatura (ZAMBOLIM e CHAVES, 1983). A razão do grande número de fungos que adquiriram resistência a este composto, segundo os autores, ainda não está bem esclarecida, mas as hipóteses levantadas, entre outras, são de que este fungicida é recomendado contra grande variedade de doenças em grande escala, possibilitando, deste modo, chances para ocorrência de resistência, e também a alta pressão de seleção exercida por este fungicida em relação a outros. As condições do meio ambiente também devem influenciar o processo.

A absorção e translocação do benomyl tem sido estudada após pulverização foliar, imersão em banhos fungicidas, tratamento de solo e ainda por injeções sob pressão no tronco ou no solo.

GARY e SINCLAIR (1970) observaram que a aplicação do fungicida no solo foi mais eficiente do que a aplicação foliar; SMALLEY *et alii* (1973) injetaram benomyl no solo e observaram a excelente ação do fungicida.

MONT e VILLON (1975) aplicando benomyl no solo em diferentes dosagens e com intervalos de aplicações, conseguiram controle eficiente durante um período de tempo bastante longo, contra *Erysiphe cichoracearum* inoculado na folha. Também resultados excelentes foram obtidos por NEELY (1975) e BLACK e NEELY (1976) que aplicaram injeções de benomyl em altas concentrações no solo, havendo como resposta um controle quase total de mancha foliar, e os últimos autores observaram que o nível do fungicida que permaneceu nas folhas após trinta dias da aplicação, foi suficiente para inibir o crescimento de *Ceratocystis*.

Segundo ERWIN (1973), a aplicação de benomyl no solo tem a vantagem de fornecer um suprimento contínuo de MBC à parte superior da planta, embora para controle no campo, em geral, seja necessária grande quantidade do fungicida.

Estudos sobre a translocação de fungicidas

sistêmicos no interior de plantas revelaram que, em geral, o sentido da translocação é ascendente, podendo atingir o topo da planta ou simplesmente limitar-se à parte inferior do caule (PETERSON e EDGINGTON, 1970; BERGGREN e PINCKARD, 1973; WITT e CANCINO, 1975; WARNER e EDGINGTON, 1980).

MEYER *et alii* (1971) trataram uma espécie de grama com benomyl através do solo e posteriormente realizaram bio-ensaios, os quais revelaram a presença de fungicida na parte aérea 48 horas após a aplicação do produto, que se acumulou até 96 horas após o tratamento. A maior proporção do fungicida foi encontrada nas folhas, evidenciando assim uma translocação ascendente. Quando o fungicida foi aplicado através de pulverização foliar, os autores não constataram o composto nas partes inferiores às pulverizadas, não se revelando portanto a existência de movimento descendente.

O movimento ascendente do benomyl foi também constatado por THAPLIYAL e SINCLAIR (1971) em plântulas de soja, a partir de absorção radicular; anteriormente GARY e SINCLAIR (1970), tratando o solo com benomyl durante 4 semanas, observaram o acúmulo do fungicida nos cotilédones da soja e pouca estabilidade do mesmo no hipocótilo, oferecendo dessa forma limitada proteção contra o ataque de organismos causadores do tombamento.

WITT e CANCINO (1975) observaram que benomyl

apresentou um movimento ascendente em morangueiro, sendo detectado em pecíolos das folhas vinte dias após a aplicação.

De acordo com NETZER e DISHON (1970) e PETERSON e EDGINGTON (1971), o acúmulo do fungicida deve ocorrer em órgãos que apresentam transpiração mais intensa, e portanto, órgãos com poucos estômatos devem receber pequena quantidade de fungicidas.

Essa teoria foi levantada pelos autores, pois tratando plantas de gerânio com benomyl, detectaram MBC nas folhas, mas não encontraram evidências do composto em pétalas; em tomateiros, o teor do composto foi superior nas folhas do que nos frutos e em feijão-vagem, a concentração encontrada nas vagens foi inferior aquela encontrada nas folhas.

O movimento da maioria dos fungicidas sistêmicos no interior da planta é uma movimentação apoplástica, sendo transportados pelo xilema no fluxo da transpiração, de acordo com PETERSON e EDGINGTON (1971) e SHEPARD (1972); EDGINGTON *et alii* (1980) e que essa distribuição do fungicida na planta ocorre passivamente.

Esse postulado havia sido anteriormente observado por SNEL e EDGINGTON (1970) em plantas de feijoeiro, que haviam sido tratadas com carboxin e oxicarboxin no solo. Houve acúmulo dos produtos nas margens das folhas do feijoeiro,

que haviam sido tratadas com carboxin e oxicarboxin no solo. Este acúmulo dos produtos nas margens das folhas do feijoeiro é um sintoma característico do movimento apoplástico. Também foi demonstrado, nesse trabalho, que em folhas com excessiva transpiração a quantidade do fungicida encontrada foi muito maior do que sobre as folhas com menor transpiração. WARNER e EDGINGTON (1980) afirmaram que a doença nas folhas afeta a transpiração, absorção e translocação do fungicidas para as folhas.

Contrariando o movimento ascendente dos fungicidas sistêmicos no interior da planta, alguns autores encontraram um movimento descendente do produto pelo floema,

BARON (1971) usou benomyl em pulverização na parte aérea de bananeira e observou a presença do fungicida em folhas novas, que apareceram após o tratamento, onde o autor conclui que deve ter ocorrido um movimento descendente do produto pelo floema. Também KIRBY (1972) analisando um trabalho, onde o autor após aplicação foliar de thiabendazol observou presença do produto nas folhas, no caule e nas raízes, analisa a possibilidade de que exista algum grau de translocação pelo floema.

Baseando-se no fato de que, a maioria dos autores consideram a translocação ascendente como a principal via de translocação dos fungicidas sistêmicos, SHEPARD

(1972), considera que a aplicação desses fungicidas deveria ser na parte inferior das plantas, ou na região abaixo da superfície do solo, através de tratamento do solo ou de sementes, pois pulverização da parte aérea é bastante limitada (EDGINGTON *et alii*, 1980).

ROLIM (1976) concluiu que em cafeeiros jovens ocorre a translocação do fungicida benomyl, a partir da absorção radicular, porém, existe uma dosagem mínima necessária de fungicida para que a distribuição se verifique com certa homogeneidade em todas as folhas e que a translocação do fungicida sistêmico pela parte aérea ocorre em função do tempo decorrido após a aplicação do produto no solo.

WARNER e EDGINGTON (1980) observaram a translocação ascendente do benomyl, o qual se acumulou próximo as áreas nas folhas infectadas pelo fungo patogênico, controlando desse modo a doença, pois não permitiu a colonização do fungo.

KAIS *et alii* (1981) verificaram que benomyl era translocado sistemicamente em mudas de *Pinus*, persistindo na planta durante o tempo em que estas são mais vulneráveis à doenças, deste modo prevenindo ou reduzindo significativamente o ataque de patógenos.

Várias técnicas são usadas para estudar o movimento de um fungicida na planta. Bio-ensaios são usados

por diversos autores, que utilizaram diferentes técnicas e fungos-testes: *Rhizoctonia solani* por BORUM e SINCLAIR (1967) e por THAPLIYAL e SINCLAIR (1971), *Verticillium albo-atrum* por ERWIN (1969), *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*, por GRAY e SINCLAIR (1970), *Cephalosporium gregatum* por GRAY e SINCLAIR (1970), *Ceratocystes ulmi* por SMALLEY et alii (1973), *Botrytis cinerea*, por GREENAWAY (1973), *Penicillium atrovenetum* por KIRKPATRICK e SINCLAIR (1976) e *Glomerella cingulata* por PETERSON e EDINGTON (1970 e 1971) e ROLIM (1976).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Efeito de fungicidas sobre os fungos micorrízicos

3.1.1. Efeito de fungicidas *in vitro* sobre o crescimento micelial de *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*

- Preparo do inóculo

Foram utilizados os fungos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* (isolado-Marx 185) e *Thelephora terrestris* (isolado-Marx 201), procedentes de Georgia (USA), isolados de *Pinus taeda* e cultivados em placas de Petri contendo meio MMN (MARX, 1969).

O tipo de inóculo usado foi o de um disco de

micélio, medindo 0,6 cm de diâmetro, obtido da periferia das colônias dos fungos com 15 dias de idade.

- *Fungicidas usados*

Estudou-se a ação de dez fungicidas sobre o crescimento de *P. tinctorius* e *T. terrestris*. Os fungicidas foram utilizados em dois experimentos e estão especificados na Tabela 1.

- *Preparo do meio de cultura com fungicidas*

Para o preparo dos meios de cultura com fungicidas seguiu-se a técnica de EDGINGTON *et alii* (1971), modificada por MENTEN *et alii* (1976) cujo procedimento consistiu em: 1. pesagens dos produtos (quantidades variáveis de forma a obter 1,0 g do ingrediente ativo); 2. dissolução em 5,0 ml de acetona (benomyl), thiram, cáptan, PCNB e captafol) ou água (carboxin, oxicarboxin, mancozeb, oxicleto de cobre e terrazol), completando-se o volume com água destilada estéril para 100 ml; 3. diluições em série foram feitas de tal modo que adicionando-se 1,0 ml de uma destas suspensões em 99 ml do meio de cultura fundente (45° a 47° C) se obtivesse as concentrações desejadas (1, 10 e 100 ppm).

Foi utilizada apenas uma testemunha para as diferentes concentrações dos fungicidas.

TABELA 1. Relação dos fungicidas utilizados nos experimentos.

Produto comercial	Nome Técnico	Ingrediente ativo	Concentração do ingrediente ativo (%)
Benlate	Benomyl	Metil 1 (butil-carboil) 2-benzimida sol-carbamato	50
Vitavax 75 PM	Carboxin	5,6-dihidro-2-metil-1,4-oxatiin 3-carboxanilida	75
Terrazol	Terrazol	5 etoxy-3 triclolorometil 1,2,4 tiadizol	35
Rhodiauram	Thiram	Bissulfeto de tetrametil-tiuran	70
Dithane M-45	Mancozeb	Etileno bisditiocarbamato de Mg Zn	80
Cuprosan Azul	Oxicloreto de cobre	Oxicloreto de cobre	35
Captan 75 PM	Captan	N(triclorometiltio)-4 ciclohexeno-1,2-dicarboximida	75
Brassicol 75 PM	PCNB	Pentacloronitrobenzeno	75
Difolatan	Captafol	N (1,1, 2,2-tetracloretiltio)-4 ciclohexeno, 1,2-dicarboximida	50
Plantvax 75 PM	Oxicarboxin	4,4-dióxido 5,6 dihidro-2-metil-1,4 oxatiin-3 carboxianilida	75

Para o meio de cultura com os fungicidas nas concentrações desejadas, após solidificado nas placas de Petri, foi transferido o inóculo dos fungos micorrízicos. A incubação das placas de Petri foi feita em estufa com temperatura variando entre 22°C e 25°C.

As placas testemunhas eram constituídas apenas do meio de cultura.

- *Avaliações da fungitoxidade*

A avaliação para o fungo *P. tinctorius* foi efetuada sete dias após a transferência do fungo para o meio de cultura, através de medidas do crescimento em diâmetro das colônias.

Em virtude do crescimento mais lento do *T. terrestris*, as medições dos diâmetros das colônias foram feitas no décimo segundo dia após a transferência do fungo para o meio de cultura.

Os experimentos foram submetidos a análise estatística tipo fatorial, série mista 3x2 inteiramente casualizado, sendo realizado desdobramento nas análises com resultados das interações significativas.

3.2. Efeito de fungicidas sobre as micorrizas em mudas de *Pinus*, causadas por *Thelephora terrestris*

- Preparo do inóculo

Foi utilizado o mesmo isolado do fungo micorrízico *T. terrestris* dos experimentos anteriores.

A produção do inóculo foi realizada de acordo com MARX e BRYAN (1975), cujo procedimento consistiu em adicionar a frascos de vidro com capacidade de 1 litro, 700 ml de vermiculita peneirada, 25 ml de turfa e 350 ml de solução nutritiva de MMN. Os frascos foram vedados com tampas metálicas nas quais foram adaptados tubos de vidro tamponados com algodão hidrófobo para permitir trocas gasosas, e autoclavados a 120°C de temperatura e 1 atmosfera de pressão durante 60 minutos. Para o substrato contido nos frascos de vidro foram transferidos discos de micélio de *T. terrestris* retirado da periferia das colonias com 30 dias de idade crescendo em meio MMN. Os frascos foram embrulhados em sacos de papel e mantidos em temperatura ambiente por um período de 60 a 70 dias, até colonização total do substrato pelo micélio do fungo.

Para infestação do solo, o conteúdo dos frascos foi colocado em tecido de algodão poroso e lavado sob água corrente durante alguns minutos. O excesso de água foi

retirado e o inóculo colocado em isopor com gelo até sua aplicação no solo.

- *Instalação do ensaio*

O ensaio foi instalado na casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba - São Paulo. O solo utilizado no ensaio foi esterilizado através da fumigação com a formulação comercial de brometo de metila (98%), a base de $40 \text{ cm}^3/\text{m}^2$. O brometo de metila foi aplicado sob cobertura de lençol plástico que foi mantida durante 72 horas. A pós a retirada da cobertura o solo foi revolvido e somente após 48 horas é que foi utilizado para a instalação do experimento.

O inóculo do fungo micorrízico foi misturado com o solo esterilizado na proporção de 1/10 (v/v), procedendo-se em seguida ao preenchimento dos vasos. Fez-se a semeadura, empregando-se sementes de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, fornecidas pelo Departamento de Silvicultura da ESALQ/USP. Cada vaso recebeu 15 sementes, as quais foram recobertas com solo peneirado e palha de arroz previamente fumigada com brometo de metila, e após a emergência foram deixadas de 7 a 9 plantas por vaso. Vinte dias após a semeadura efetuou-se a adubação do solo à base de 5,0 g de NPK por vaso (3:14:6) diluído em água, em períodos de 15 dias, através de rega.

- *Aplicação dos fungicidas no solo*

Foram utilizados os fungicidas Benomyl, Captan, PCNB, Mancozeb e Thiram para tratamento do solo inoculado com *T. terrestris*.

A dosagem utilizado foi de 8 g/m² (do princípio ativo do produto), as quais foram divididas em quatro aplicações de 2 g/m² cada.

A primeira aplicação dos fungicidas no solo foi 10 dias após a semeadura; as quantidades dos produtos foram diluídas em 1000 ml de água, irrigando-se o solo com a suspensão fungicida, cada vaso recebeu 200 ml de preparação. O excesso da drenagem era recolhido e devolvido ao solo do vaso.

As plantas testemunhas foram irrigadas com igual volume de água.

A segunda e terceira aplicações dos fungicidas foram feitas ao vigésimo e trigésimo dias respectivamente, e a quarta aplicação sessenta dias após a semeadura, seguindo a mesma metodologia da aplicação anterior.

O experimento foi instalado num delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições por tratamento.

- Avaliações

Foram efetuadas avaliações visuais periódicas visando verificar o aparecimento de frutificações do fungo micorrízico.

Após seis meses de cultivo as mudas foram retiradas dos vasos e mergulhadas em água para lavagem das raízes. A seguir realizou-se avaliação visual da formação de micorrizas em termos de porcentagem de raízes laterais curtas que apresentavam-se com ectomicorrizas. Após essa análise as mudas foram levadas para laboratório, onde foram determinados o diâmetro do colo, altura e peso seco das mudas.

3.3. Efeito sistêmico de benomyl sobre mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis*

O fungo *Cylindrocladium pteridis* foi empregado no teste para se verificar a translocação do benomyl no interior da planta, pois sua alta sensibilidade ao produto foi confirmada através de um ensaio biológico, partindo-se de uma solução de 1,0 g de ingrediente ativo do fungicida, através de diluições sucessivas, as quais adicionadas ao meio de cultura (BDA), se obteve as concentrações desejadas. Para o meio de cultura após solidificado, foi transferido discos do micélio de *C. pteridis* (0,6 cm de diâmetro) e incubados

à temperatura ambiente.

A avaliação do bio ensaio foi efetuada após sete dias, medindo-se o diâmetro das colônias. O experimento foi instalado num delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições.

As mudas de *Pinus* receberam 4 aplicações (2 g/m² cada), 10, 20 e 60 dias após a semeadura, e uma última dose também de 2 g/m², 90 dias após.

Os testes foram efetuados dez a vinte dias de pois da última aplicação do fungicida no solo.

As plantas foram arrancadas, lavadas com água corrente e separadas partes da raiz, caule (colo e parte superior) e acículas (inferiores e terminais). Os pedaços foram esterilizados superficialmente por imersão durante 10 mi nutos em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,5%, sendo em seguida lavados em banhos sucessivos de água esterilizada.

Foram efetuados dois experimentos com metodologias diferentes a fim de se verificar a translocação do be nomyl. No primeiro experimento, para o centro das placas de Petri contendo BDA, foram transferidos discos do micélio do fungo, *C. pteridis*, retirados da periferia de colônias com 7 dias de idade. Os pedaços das plantas foram colocados em

pontos equidistantes do centro das placas, as quais foram incubadas à temperatura ambiente,

Nas placas testemunhas foram utilizados pedaços das plantas que não receberam tratamento do fungicida. A pós cinco dias foi efetuada a avaliação visual deste experimento, observando-se o halo de inibição.

No segundo experimento, adicionou-se sobre o meio de cultura nas placas de Petri, 1 ml de uma suspensão concentrada de esporos de *C. pteridis* (cerca de 10^4 a 10^5 esporos/ml) a qual foi espalhada uniformemente com alça de Dri galski. Após 3 horas, foram colocados os pedaços das plantas que haviam recebido o fungicida, em pontos equidistantes do centro das placas, as quais foram incubadas à temperatura ambiente.

A avaliação do 2º experimento foi efetuada após cinco dias, medindo-se os halos de inibição que se formava ao redor dos pedaços das plantas. Após vinte dias da aplicação do fungicida, efetuou-se novo teste, seguindo-se a mesma metodologia.

Os experimentos foram instalados num delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (raiz, colo, ápice do caule, acícula terminal, acícula inferior) e cinco repetições.

4. RESULTADOS

4.1. Efeito de fungicidas sobre os fungos micorrízicos

4.1.1. Efeito de fungicidas *in vitro* sobre o crescimento micelial de *Pisolithus tinctorius* e *Thelephora terrestris*

Os resultados quando analisados demonstraram que houve diferença entre fungicidas e concentrações e houve também interação entre concentrações e fungicidas (Tabela 2).

Através dos resultados observa-se que os fungicidas benomyl e terrazol na concentração de 1 ppm tiveram um efeito estimulante sobre o fungo *P. tinctorius*.

A 10 ppm não foi observada diferenças entre

TABELA 2. Efeito de fungicidas e concentrações sobre o desenvolvimento micelial (cm) de *P. tinctorius* (Experimento 1).

Fungicidas	Diâmetro das colônias (cm) nas Concentrações (ppm)			Médias
	1	10	100	
Benomy1	4,30	3,31	0,60	2,73 ^B
Terrazol	4,57	3,81	1,16	3,18 ^A
Carboxin	1,16	0,60	0,60	0,78 ^C
Thiram	0,60	0,60	0,60	0,60 ^C
Mancozeb	3,95	2,23	0,60	2,26 ^B
Testemunha	-	-	-	-
Médias	2,91 ^X	2,11 ^Y	0,71 ^Z	

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%)

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 2. (continuação)

Desdobramento 1

Concentração (ppm)	Efeito dos fungicidas dentro de cada concentração			
	Benomyl	Terrazol	Carboxin	Thiram
1	4,30 a	4,57 a	1,16 b	0,60 b
10	3,31 a	3,81 a	0,60 c	0,60 c
100	0,60 a	1,16 a	0,60 a	0,60 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 2. (continuação)

Desdobramento 2

Concentração (ppm)	Efeito das concentrações dentro de cada fungicida				
	Benomyl	Terrazol	Carboxin	Thiram	Mancozeb
1	4,30 a	4,57 a	1,16 a	0,60 a	3,95 a
10	3,31 b	3,81 b	0,60 a	0,60 a	2,23 b
100	0,60 c	1,16 c	0,60 a	0,60 a	0,60 c

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

benomyl e terrazol, enquanto que, carboxin e thiram foram se melhantes entre si e mancozeb apresentou diferença em rela-ção aos outros tratamentos.

Para todos os fungicidas testados no experi-mento, a concentração de 100 ppm não mostrou diferença significativa.

Comparando-se as concentrações dentro de fun-gicidas, verifica-se que para benomyl, terrazol e mancozeb foram encontradas diferenças estatísticas dentro de cada concentração. O terrazol apesar dessas diferenças, não inibiu o desenvolvimento micelial de *P. tinctorius*, mesmo na dosa-gem mais elevada.

O fungicida thiram apresentou efeito bastante forte sobre o fungo; não havendo crescimento micelial em ne-nhuma das concentrações usadas e juntamente com carboxin não apresentaram diferenças entre as concentrações.

Na Tabela 3, observa-se que houve diferença significativa para o efeito de concentrações e para alguns fungicidas. A interação apresentou significância, efetuando-se desdobramento dos graus de liberdade da interação.

Comparando-se o efeito dos tratamentos dentro das concentrações verifica-se que a concentração de 1 ppm não impediu que o micélio do fungo se desenvolvesse. Carboxin ,

TABELA 3. Efeito de fungicidas e concentrações sobre o desenvolvimento micelial (cm) de *T. terrestris*. Experimento 2.

Fungicidas	Diâmetro das colônias (cm) nas Concentrações (ppm)			Médias
	1	10	100	
Benomyl	2,23	1,60	0,60	1,47 ^A
Terrazol	1,79	1,43	0,60	1,27 ^B
Carboxin	1,17	0,60	0,60	0,79 ^C
Thiram	1,14	0,60	0,60	0,77 ^C
Mancozeb	1,07	0,60	0,60	0,75 ^C
Testemunha	2,28			
Médias	1,48 ^X	0,96 ^Y	0,60 ^Z	

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%)

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 3. (continuação)

Desdobramento 1

Concentração (ppm)	Efeito de fungicidas dentro de cada concentração				
	Benomyl	Terrazol	Carboxin	Thiram	Mancozeb
1	2,23 a	1,79 b	1,17 c	1,14 c	1,07 c
10	1,60 a	1,43 a	0,60 b	0,60 b	0,60 b
100	0,60 a	0,60 a	0,60 a	0,60 a	0,60 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 3. (continuação)

Desdobramento 2

Concentração (ppm)	Efeito das concentrações dentro de cada fungicida			
	Benomyl	Terrazol	Carboxin	Thiram Mancozeb
1	2,23 a	1,79a	1,17 a	1,14 a 1,07 a
10	1,60 b	1,43 b	0,60 b	0,60 b 0,60 b
100	0,60 c	0,60 c	0,60 b	0,60 b 0,60 b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

thiram e mancozeb não apresentaram diferenças entre si. A concentração de 10 ppm de carboxin, thiram e mancozeb foi inibitória para *Thelephora*, porém benomyl e terrazol não diferiram entre si.

Para as concentrações dentro de fungicidas, houve diferença nas três concentrações para benomyl e terrazol, enquanto que para carboxin, thiram e mancozeb, esta foi observada apenas entre a menor dosagem e as demais.

Analizando-se os resultados do experimento 2, quando foram utilizados sete fungicidas, tanto para *P. tinctorius* como para *T. terrestris*, ficou demonstrado que houve interação entre fungicidas e as concentrações, sendo efetuado o desdobramento dos graus de liberdade da interação.

O crescimento micelial do fungo em média diferiu entre si ao nível de 5% de probabilidade para efeito de concentrações e para alguns fungicidas, para ambos os fungos (Tabelas 4 e 5).

Considerando o efeito dos fungicidas dentro das concentrações, para *P. tinctorius* (Tabela 4) a concentração de 1 ppm para o benomyl, proporcionou ao fungo crescimento superior aos outros fungicidas, enquanto que captan, oxicleto de cobre e captafol não diferiram entre si.

Os fungicidas oxicarboxin e PNBC ainda nessa

concentração apresentaram o mesmo efeito, sendo que thiram nessa concentração considerada a mais fraca, não permitiu o crescimento do micélio do fungo.

Analisando-se a concentração de 10 ppm observa-se que começa a haver uma diminuição no crescimento micelial, apesar dos fungicidas benomyl, captan, oxicleto de cobre e captafol não diferiram entre si. Embora tenha havido crescimento micelial nas placas tratadas com oxicarboxin, não foi notada diferença significativa entre este e os fungicidas PCNB e thiram, os quais inibiram completamente o crescimento do fungo.

A concentração de 100 ppm permitiu desenvolvimento do micélio nos tratamentos com captan, oxicleto de cobre e captafol, e benomyl, oxicarboxin, PCNB e thiram não apresentaram crescimento micelial.

Comparando-se as concentrações dentro de tratamento, verifica-se que ocorreu variação entre as três concentrações apenas para o fungicida benomyl. Para captan, não houve diferença entre 1 e 10 ppm, havendo uma média muito próxima entre as duas concentrações, as quais diferiram de 100 ppm, apesar de que nessa dose ainda houve desenvolvimento do fungo. Mesma análise também pode ser generalizada para oxicleto de cobre, captafol e oxicarboxin, porém destacando-se que para esse último tratamento a dose de 100 ppm

TABELA 4. Efeito de fungicidas e concentrações sobre o desenvolvimento micelial
(cm) de *P. tinctorius*. Experimento 3.

Fungicidas	Diâmetro das colônias (cm) nas Concentrações (ppm)			Médias
	1	10	100	
Benomyl	4,15	2,79	0,60	2,51 ^A
Captan	3,14	3,01	2,09	2,75 ^A
Oxicloreto de cobre	3,26	2,94	2,13	2,77 ^A
	3,08	2,44	1,97	2,49 ^A
Oxicarboxin	1,70	1,31	0,60	1,20 ^B
PCNB	1,26	0,60	0,60	0,81 ^C
Thiram	0,60	0,60	0,60	0,60 ^C
Testemunha	3,15			
Médias	2,45 ^X	1,95 ^Y	1,23 ^Z	

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 4. (continuação)

Desdobramento 1

Concentrações (ppm)	Efeito dos fungicidas dentro de cada concentração					
	Benomyl	Captan	O. de cobre	Captafol	Oxicarboxin	PCNB Thiram
1	4,15 a	3,14 b	3,26 b	3,08 b	1,70 c	1,26 c d 0,60 d
10	2,79 a	3,01 a	2,94 a	2,44 a	1,31 b	0,60 b 0,60 b
100	0,60 b	2,09 a	2,13 a	1,97 a	0,60 b	0,60 b 0,60 b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 4. (continuação)

Desdobramento 2

Concentrações (ppm)	Efeito das concentrações dentro de cada tratamento					
	Benomyl	Captan	O,de cobre	Captafol	Oxicar- ban	PCNB Thiram
1	4,15 a	3,14 a	3,26 a	3,08 a	1,70 a	1,26 a 0,60 a
10	2,79 b	3,01 a	2,94 a	2,44 a	1,31 a	0,60 b 0,60 a
100	0,60 c	2,09 b	2,13 b	1,97 c	0,60 b	0,60 b 0,60 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

foi letal. Para o PCNB apenas na concentração de 1 ppm houve crescimento do fungo.

Para o fungo *T. terrestris* (Tabela 5) não foram significativas as diferenças para o crescimento do fungo, entre as placas com 1 ppm de benomyl, captan, oxicleto de cobre. Captafol não apresentou diferenças para com oxicarboxin e este para com thiram. PCNB foi o fungicida que nesta concentração diferiu de todos os outros tratamentos, pois não houve crescimento nas placas tratadas com esse produto.

Para 10 ppm, oxicleto de cobre, captafol e captan, o crescimento nas placas foi superior aos demais, e oxicarboxin, PCNB e thiram já inibiram o crescimento do fungo nessa concentração. Para a concentração de 100 ppm apenas os tratamentos com captan e oxicleto de cobre mostraram diferença para com as demais,

O desdobramento 2, da Tabela 5, mostra o efeito das concentrações dentro de cada tratamento. Os dados apresentados nessa tabela permitem, por sua simples observação saber em que concentração se encontra a maior inibição do micélio do fungo, sendo que benomyl foi o único tratamento que apresentou diferenças significativas entre as três concentrações.

Através da análise da tabela, verifica-se que

TABELA 5. Efeito de fungicidas e concentrações sobre o desenvolvimento micelial
(cm) de *T. terrestris*. 2º Experimento.

Fungicidas	Diâmetro das colônias (cm) nas Concentrações (ppm)			Médias
	1	10	100	
Benomyl	2,79	1,76	0,60	1,71 ^B
Captan	2,73	2,53	2,35	2,54 ^A
Oxicloreto de cobre	2,79	2,61	2,59	2,67 ^A
Captafol	2,09	2,15	0,60	1,61 ^B
Oxicarboxin	1,73	0,60	0,60	0,97 ^C
PCNB	0,60	0,60	0,60	0,60 ^D
Thiram	1,47	0,60	0,60	0,89 ^{CD}
Testemunha	3,11			
Médias	2,03 ^X	1,55 ^Y	1,13 ^Z	

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 5. (continuação)

Desdobramento 1

Concentrações (ppm)	Efeito dos fungicidas dentro de cada concentração					
	Benomyl	Captam	O.de cobre	Captafol	Oxicarboxin	PCNB Thiram
1	2,79 a	2,73 a	2,79 a	2,09 b	1,73 bc	0,60 d 1,47 c
10	1,76 c	2,53 b	2,61 b	2,15 bc	0,60 d	0,60 d 0,60 d
100	0,60 b	2,35 a	2,59 a	0,60 b	0,60 b	0,60 b 0,60 b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

TABELA 5. (continuação)

Desdobramento 2

Concen- trações (ppm)	Efeito das concentrações dentro de cada fungicida					
	Benomyl	Captan	O,de cobre	Captafol	Oxicarboxin	PCNB Thiram
1	2,79 a	2,73 a	2,79 a	2,09 a	1,73 a	0,60 a 1,47 a
10	1,76 b	2,53 a	2,61 a	2,15 a	0,60 b	0,60 a 0,60 b
100	0,60 c	2,35 a	2,59 a	0,60 b	0,60 b	0,60 a 0,60 b

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os valores são médias de 5 repetições.

captan e oxicleto de cobre não tiveram ação sobre o crescimento do fungo pois mesmo em concentrações elevadas esses produtos não evitaram o desenvolvimento do microrganismo.

Captafol mostrou diferença estatística apenas com a concentração de 100 ppm, diferindo de oxicarboxin e thiram que a 10 ppm já apresentavam dose letal para o fungo. Para o PNCB não houve diferença entre as concentrações pois todas elas inibiram o desenvolvimento do micélio de *Thelephora*.

4.2. Efeito de fungicidas sobre as micorrizas formadas de *T. terrestris* em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*

A avaliação da porcentagem de ectomicorrizas formadas por *T. terrestris* em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* após seis meses de cultivo e tratadas com fungicidas, mostrou que o método de infestação artificial do solo foi efetivo nos tratamentos onde não houve efeito do fungicida.

A porcentagem de ectomicorrizas formadas por *T. terrestris* em mudas de *Pinus* foi altamente influenciada pelo benomyl aplicado no solo, quando comparado aos demais tratamentos, inclusive a testemunha (Tabela 6, Figura 1). A

TABELA 6. Formação de ectomicorrizas ^{1/} em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* com seis meses de idade, plantadas em solo infestado com *T. terrestris* e tratado com diferentes fungicidas.

Tratamentos	% Micorrizas formadas por		Total
	<i>Thelephora terrestris</i>	Outros fungos	
Benomyl	68,02* a	3,73 ab	71,75 a
Captan	22,56 c	2,47 abc	25,04 c
PCNB	0,0 e	0,0 e	0,0 e
Mancozeb	4,28 d	0,77 c	5,05 d
Thiram	6,48 d	1,46 bc	7,89 d
Testemunha	56,70 b	4,46 a	60,40 b

^{1/} Avaliada visualmente com base na porcentagem de raízes que apresentaram-se micorrizadas.

* Em cada coluna, médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%).

FIGURA 1. Efeito do benomyl (A) e captan (B) na formação de ectomicorrizas de *T. terrestris* em relação à testemunha (C)

testemunha foi superior aos demais tratamentos que receberam os fungicidas. Captan, mancozeb, Thiram reduziram a ocorrência de micorrizas. Nos tratamentos com o fungicida PCNB houve uma inibição total de ectomicorrizas.

Observou-se na avaliação final do experimento que houve ocorrência de fungos ectomicorrízicos não identificados, em uma porcentagem muito baixa, mesmo na testemunha, onde não houve aplicação de fungicida, a não ser para o PCNB que inibiu totalmente o aparecimento de qualquer simbionte.

Após três meses de cultivo, nas mudas de *P. caribaea* que foram tratadas com benomyl, a formação de ectomicorrizas foi confirmada pelo aparecimento de frutificações de *T. terrestris* em todas as repetições do tratamento. Apenas trinta dias após, é que as frutificações do fungo apareceram nas plantas testemunhas e nas tratadas com captan. Não se observou basidiocarpo do fungo ectomicorrízico em nenhum outro tratamento.

Os parâmetros usados para comparar o desenvolvimento das mudas como: diâmetro do colo, peso da matéria seca da raiz e parte aérea, de maneira geral apontaram os fungicidas benomyl e captan como superiores a todos os tratamentos, sendo que na comparação com a testemunha não diferiram entre si (Tabela 7).

Analisando-se o diâmetro do colo, verificou-se que mesmo no tratamento com PCNB, onde se observou o efeito do fungicida, os tratamentos não diferiram entre si.

Comparando-se os efeitos dos tratamentos sobre os parâmetros de peso seco analisados, verificou-se que houve diminuição na formação das raízes para mancozeb, thiram e PCNB, sendo que os dois primeiros se compararam com a testemunha e para a parte aérea observa-se o reflexo do crescimento da planta onde os tratamentos se equivaleram entre si (exceto PCNB), não havendo diferenças estatísticas entre eles.

Observando-se os resultados para todos os tratamentos utilizados, verificou-se que benomyl e captan superaram a testemunha (Figura 2) mesmo não havendo diferenças estatísticas significativas entre eles em nenhum parâmetro analisado, contrastando com o PCNB, que foi o fungicida que apresentou maior efeito sobre as mudas, mostrando diferenças significativas para todos os parâmetros (exceto diâmetro do colo) (Tabela 7, Figura 3).

TABELA 7. Crescimento de mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* após 6 meses de cultivo em vasos de barro, com solo infestado artificialmente com o fungo micorrízico *Thelephora terrestris* e tratado posteriormente com fungicidas.

Tratamentos	Altura do caule (cm)	Diâmetro do colo (cm)	Peso da matéria seca (g)			Relação P.aérea/raiz
			Raíz	Parte aérea	Total	
Benomyl	36,24 ab	0,58 a	13,02 a	23,99 a	36,77 ab	1,80 b
Captan	38,37 a	0,62 a	13,28 a	24,40 a	37,69 a	1,89 b
PCNB	27,54 b	0,47 a	2,33 c	9,92 b	12,25 c	4,48 a
Mancozeb	36,43 ab	0,54 a	9,42 ab	19,11 a	28,54 ab	2,26 b
Thiram	34,64 ab	0,52 a	7,30 b	20,19 a	27,49 b	2,83 b
Testemunha	35,79 ab	0,58 a	10,03 ab	21,87 a	31,91 ab	2,20 b

* Os valores são médias de 4 repetições.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (5%).

FIGURA 2. Efeito de benomyl (A) e captan (B) em relação a testemunha (C), no crescimento de mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis*. Notar desenvolvimento de frutificações de *T. terrestris*.

FIGURA 3. Efeito de benomyl (A), PCNB (B) em relação à testemunha (C) no crescimento de mudas de *P. caribaea* var. *hondurensis*. Notar desenvolvimento de frutificações de *T. terrestris* associadas ao tratamento com benomyl e testemunha.

4.3. Efeito sistêmico de benomyl em mudas de *P. caribaea*
var. hondurensis

Através do bio-ensaio os dados evidenciaram a existência de uma relação direta entre a dosagem de benomyl e a inibição do fungo teste *Cylindrocladium pteridis*, o que permitiu a realização do estudo da translocação através dessa técnica (Tabela 8).

O primeiro experimento foi avaliado visualmente, tendo sido utilizadas plantas coletadas de vasos cujo solo haviam recebido o fungicida 10 dias antes. Observou-se que, não havia crescimento do fungo no meio de cultura próximo aos pedaços da planta. Nas placas testemunhas, onde foram usadas plantas que não haviam recebido o fungicida, o micélio do fungo colonizou totalmente o meio de cultura (Figura 4).

O teste efetuado vinte dias após a aplicação do fungicida no solo, mostrou que a inibição ao microrganismo era menor, porém ainda bastante acentuada.

Os resultados do segundo experimento, onde houve a prévia aplicação de esporos de *C. pteridis*, antes da colocação das partes das plantas nas placas de Petri, mostraram que o tecido vegetal continha teor detectável do composto fungitóxico, formando zonas de inibição adjacentes as extremidades seccionadas do material, que já podiam ser ob-

servadas a partir de 48 horas, após o plaqueamento. As zonas de inibição foram medidas 5 dias após, quando as placas testemunhas haviam sido totalmente colonizadas pelo fungo (Tabela 9).

TABELA 8. Diâmetro das colônias de *Cylindrocladium pteridis* em meio de cultura com 5 dias de idade e tratadas com diferentes concentrações de benomyl,

Concentração de Benomyl (ppm)	Diâmetro das colônias (cm)
0,1	3,68* a
0,2	2,31 b
0,4	1,14 c
0,6	0,79 c
0,8	0,60 c
1,0	0,60 c
Testemunha	3,76 a

* Os valores são médias de 5 repetições.

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey (5%).

FIGURA 4. Efeito do benomyl aplicado no solo e translocado para a raiz (A), caule (B) e acículas (C) de *P. caribaea* var. *hondurensis*, utilizando-se *C. pteridis* como fungo teste,

TABELA 9. Translocação de benomyl em *Pinus caribaea* var. *hondurensis* utilizando-se o fungo teste *Cylindrocleftidium pteridis* 10 e 20 dias após aplicações do fungicida no solo.

Parte da planta avaliada	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	10 dias após a última aplicação	20 dias após a última aplicação
Raiz	38,0* a	15,4 c
Colo	30,4 b	20,2 bc
Ápice do caule	15,2 c	28,6 a
Acícula terminal	13,4 c	22,6 b
Acícula inferior	26,0 b	23,2 b

* Os valores são médias de cinco repetições.

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%).

Esta mesma metodologia foi usada para o teste realizado vinte dias após a última aplicação do fungicida. Os resultados indicam que dez dias após a aplicação do fungicida no solo, há uma maior concentração do princípio fungitóxico na raiz, pois este mostrou diferença estatística para todos os outros parâmetros analisados, não havendo diferen-

ças entre o colo e a acícula inferior. Observa-se também que as quantidades de fungicidas encontradas no ápice do caule e nas acículas terminais se equivalem, não havendo diferenças entre eles.

A distribuição do fungicida nas diversas partes da planta, após vinte dias de aplicação do produto no solo, mostrou diferenças estatísticas entre a raiz e o ápice do caule, pois os demais parâmetros analisados não diferiram entre si.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em laboratório com os dez fungicidas utilizados (Tabelas 3, 4, 5 e 6) mostraram que houve efeito entre os mesmos sobre *P. tinctorius* e *T. terrestris*, dependendo das concentrações utilizadas. Para alguns, como captam e oxicleto de cobre, nenhuma das três dosagens afetou o crescimento micelial, enquanto para outros, o efeito foi bem evidente, pois na concentração mais baixa (1 ppm) houve a inibição do desenvolvimento, como foi o caso de PCNB para *T. terrestris*.

Comparando-se os resultados encontrados no laboratório e em casa de vegetação, verificou-se que *T. terrestris* é, de um modo geral, mais sensível aos fungicidas no meio de cultura do que na planta, confirmando resultados encontrados por MARX e ROWAN (1981), onde os autores observaram que benomyl, benodanil que afetavam o desenvolvimento mi

celial de *T. terrestris* em meio de cultura, estimularam o desenvolvimento da ectomicorriza e produção de basidiocarpos. Essa diferença provavelmente acontece devido a difusão do fungicida no meio de cultura, ser muito mais rápida do que no solo.

O modo de aplicação do fungicida e o tipo de inóculo usado também influenciam a resposta dos fungos sim-biontes aos tratamentos químicos. Esta observação pode ser evidenciada analisando-se os trabalhos de THEODOROU e SKINNER (1976), que tratando sementes inoculadas com esporos de vários fungos ectomicorrízicos, verificaram que os fungicidas, de um modo geral, inibiram o desenvolvimento da simbiose em *P. radiata*, enquanto que MARX e KENNEY (1982), utilizando esporos de *P. tinctorius* para inoculação das sementes de *P. taeda*, observaram que captan e thiram aumentaram as micorrizas e apenas benomyl teve efeito negativo.

Verifica-se assim, que há necessidade de selecionar fungicidas para serem usados, e a maneira de aplicação deve estar relacionada com o modo de ação do produto.

Observou-se que houve resposta da planta para os fungicidas testados. O benomyl mostrou-se altamente significativo sobre a formação de ectomicorrizas de *T. terrestris*, confirmando resultados obtidos por vários autores (PAWUK *et alii*, 1980; KAIS *et alii*, 1981). Há ainda evidências

de um efeito de sinergismo entre o fungo e o fungicida, efeito este, que se reflete num melhor desenvolvimento da planta. Estes resultados também poderiam ser uma consequência da ação do fungicida sobre os organismos competidores do solo.

Resultados positivos também foram obtidos nos tratamentos com captan, thiram e mancozeb, onde apesar da ocorrência muito baixa de micorrizas nos dois últimos tratamentos, as plantas mostraram um bom desenvolvimento, o que poderia ser uma consequência da ação dos componentes dos produtos, que teriam agido como fertilizantes para as plantas.

Ainda com relação ao crescimento das plantas o PCNB apresentou um efeito negativo. Este resultado pode ser devido a não formação de micorrizas, comprovando a afirmativa de que espécies de *Pinus* são dependentes de ectomicorrizas para um bom desenvolvimento, ou poderia ser um efeito da ação do fungicida sobre a planta.

Observou-se nas plantas tratadas com benomyl e captan maior ocorrência de corpos de frutificação de *T. terrestris* em relação à testemunha, sugerindo que estes fungicidas podem atuar sobre microrganismos no solo, facilitando a infecção ou também a simbiose após a infecção.

É importante salientar a adaptação do simbionte para as condições de solos fumigados e tratados com produtos químicos, verificada pelo desenvolvimento de inúmeros ba

sidiocarpos. Essas frutificações em condições de viveiros, promovem a disseminação e o estabelecimento desse fungo por todo o viveiro e nas áreas próximas,

Os dados obtidos indicam que o benomyl revelou-se o mais eficiente dos fungicidas testados, apresentando uma alternativa para o controle de doenças de *Pinus* sem afetar as micorrizas, no entanto, deve-se estar prevenido para a possibilidade do aparecimento de linhagens resistentes. Na literatura existem inúmeros relatos de aquisição de resistência para vários fungos (BOLLEN e FUCHS, 1970; BOLLEN e SCHOLTEN, 1971, DEKER, 1977), e lembrar que o aparecimento de linhagens resistentes, apesar de pouco frequentes em fungos, pode tornar-se problemático, à medida que forem introduzidos fungicidas seletivos (KIRBY, 1972), portanto um programa de controle envolvendo o benomyl deve ser sempre intercalado com aplicação de fungicidas protetores que possuem ação contra os organismos sensíveis a este produto.

Novos fungicidas sistêmicos estão sendo usados para controle de doenças de *Pinus* e que não tem efeito sobre as micorrizas, como é o caso de triadimefon (KELLEY, 1982). Esse produto mostrou-se eficiente no controle da doença, não impedindo a formação de ectomicorrizas e basidiocarpos de *P. tinctorius* e *T. terrestris*, deixando assim amplas perspectivas para estudos de uso desse fungicida em nosso país.

As técnicas usadas para avaliação da concentração de fungicidas em solução, são básicas para estudos sobre controle de doenças, e são trabalhos preliminares para uma subsequente abordagem prática do problema, pois são simuladas condições de uso do composto.

Não havendo interesse em se conhecer a natureza química de um produto, o bio-ensaio é uma técnica que oferece segurança nos resultados, quando a finalidade do trabalho é determinar a presença ou ausência do princípio fungitóxico envolvido.

Os resultados apresentados na tabela 8 mostram que a sensibilidade do organismo teste *Cylindrocladium pteridis*, foi suficiente para as condições experimentais deste trabalho, onde a influência inibidora que o benomyl em baixas concentrações exerceu sobre o crescimento micelial do fungo, demonstrou que este patógeno, que é responsável por perdas significativas em viveiros de *Pinus* na região norte do País (KRÜGNER, 1980 e 1982) pode ser controlado por dosagens econômicas do produto.

Analisando-se os resultados da translocação do benomyl através da Tabela 9, a existência de diferença estatística significativa para o halo de inibição formado próximo às raízes após 10 dias da última aplicação do fungicida, indicou que houve um acúmulo do produto na raiz, e que o prog

duto ao ser absorvido pelas raízes, para ser translocado para o restante da planta, deve transpor certas barreiras inerentes da própria anatomia da planta (SHEPPARD, 1972, CROWDY, 1977).

Após 20 dias da última aplicação do fungicida observou-se que o benomyl se distribuiu por todos os órgãos da planta, acumulando-se na parte superior. Estes resultados entram em concordância com os autores que afirmam que o movimento do fungicida sistêmico dentro da planta é feito através do xilema no fluxo da transpiração (PETERSON e EDGINGTON, 1971; SHEPARD, 1972; CROWDY, 1977 e EDGINGTON *et alii*, 1980).

A constatação da presença do fungicida no caule, havendo distribuição para as acículas (Tabela 9), indicam que as doenças da parte aérea de viveiros de *Pinus*, podem ser controladas aplicando-se fungicidas sistêmicos no solo.

O trabalho evidenciou que o emprego de uma dosagem elevada do produto, permite uma distribuição mais ou menos uniforme dentro da planta, e os tratamentos por via radicular poderiam ser feitos antes da ocorrência da doença, evidenciando-se a ação protetora do fungicida, ou então, a translocação poderia ser feita para o caule ou folhas após o aparecimento dos sintomas ou esporos, quando então uma ação

terapêutica se faria necessário. Isso reduziria significativamente as doenças em viveiros, pois o fungicida permanecendo por tempos relativamente longos na planta, abrangeria o tempo em que as mudas são mais vulneráveis às doenças, não havendo necessidade de aplicações seguidas do fungicida.

O trabalho evidenciou que as doenças da parte aérea de viveiros de *Pinus* podem ser controlados por benomyl aplicado no solo, propiciando uma alternativa ao uso dos fungicidas protetores que são facilmente lavados por chuva. É necessário porém, que se verifique qual a dosagem mínima necessária e econômica do fungicida e o tempo necessário entre as aplicações, para que a distribuição se verifique com certa homogeneidade em toda a planta.

6. CONCLUSÕES

Tomando-se como base os resultados obtidos no trabalho, pode-se concluir que:

1. Os fungicidas estudados, apresentaram diferentes efeitos sobre o crescimento micelial de *P. tinctorius* e *T. terrestris*. Os fungicidas mais tóxicos foram PCNB, thiram e carboxin, os quais foram inibitórios aos fungos nas três concentrações usadas. Benomyl e terrazol apresentaram efeito estimulante na concentração de 1 ppm sobre *P. tinctorius*. Nos demais casos, quando houve efeito, este foi moderado.
2. Os fungicidas benomyl e captan não prejudicaram a formação de ectomicorrizas de *T. terrestris* em mudas de *Pinus*, sendo que benomyl estimulou a ocorrência das micorrizas e

a formação de basidiocarpos do fungo.

3. O PCNB inibiu tanto o crescimento micelial de *T. terrestris* como a formação de micorrizas, afetando negativamente o crescimento das mudas de *Pinus*.
4. Em mudas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* ocorreu a translocação de benomyl a partir da absorção radicular, e a distribuição deste fungicida 10 a 20 dias após a última aplicação no solo se verificou com certa homogeneidade por toda a planta.

7. LITERATURA CITADA

BAKSHI, B.K. e D. KUMAR, 1968. Forest tree mycorrhiza.

Indian Forester. Deha Dun, 52: 79-84.

BAKSHI. B.K. e N.B. DOBRIYAL, 1970, Effect of fungicides to control damping-off on development of mycorrhizae.

Indian Forester. Deha Dun. 96: 701-703.

BARON, M. 1971. Dosage, migration et distribution d'un fongicide systemique (Benomyl) dans les fenilles. *Fruits d'Outre Mer*. Paris, 26: 631-650.

BERGGREN, G.T. e J.A. PINCKARD, 1973.. Movemnt of the systemic fungicide carboxin into cotton seedlings, assisted by the systemic inseticide. *Plant Disease Reporter*. Washington, 57: 642-645.

- BERRY, C.R. e D.H. MARX, 1975. Sewage sludge and *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae; Their effect on growth of pine seedlings. *Forest Science*, Washington, 22: 351-358.
- BLACK, W.M. e D. NEELY, 1976. Root uptake of soil-injected benomyl and its detection within *Ulmus americana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Washington, 24(5): 1016-1018.
- BOLLEN, G.J. e A. FUCHS, 1970. On the specificity of the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of benomyl. *Netherlend Journal Plant Pathology*, 76: 299-311.
- BOLLEN, G.J. e SCHOLTEN, 1971. Acquired resistance to benomyl and some other systemic fungicides in a strain of *Botrytis cinerea* in ciclamen. *Netherland Journal Plant Pathology*, 77: 83-90.
- BORUN, D.E. e J.B. SINCLAIR, 1967. Systemic activity of 2,3-dihidro-5-carboxanilide-6-methyl-1,4-oxathiin (Vetavax) against *Rhizoctonia solani* in cotton seedlings. *Phytopathology*. Saint Paul, 57: 805.
- BOWEN, G.D. e C. THEODORU, 1973. Growth of ectomycorrhizal fungi around seeds and roots. In: MARXS, G.S. e T.T. KOZLOWISKI. *Ectomucorrhizae their Ecology and Physiology*. New York, Academic Press Editora. p. 107-150.

- BRISCOE, C.B., 1959. Early results of mycorrhizal inoculation of pine in Puerto Rico. *Caribbean Forester*. Rio Piedras, 20: 73-77.
- CLEMONS, G.P. e H.D. SISLER, 1969. Formation of a fungicides derivate from benlate. *Phytopathology*, Saint Paul, 59: 705-706.
- CONDORI, L.V., 1966. Esfectorio de las micorrizas en el crecimiento inicial de coníferas tropicales. *Turrialba*, Turrialba, 14(3): 151-155.
- CONNOR, S.R. e J.W. HEUBERGER, 1968. Apple scab V. Effect of late season applications of fungicides on prevention of perithecial development by *V. inaequalis*. *Plant Disease Reporter*, Washington, 52: 654-658.
- DEKKER, J., 1977. Resistance. In: MARSH, R.W. Ed. Systemic Fungicides. Londres Longman Group Limited: 176-197.
- DELP, C.A. e H.L. KLOPPING, 1968. Performance and attributes of a new fungicide and mite ovicide candidate. *Plant Disease Reporter*. Washington, 52: 95-99.
- EDGINGTON, L.V., K.L. KHEW e G.L. BARROW, 1971. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, Saint Paul. 61: 42-43.

- EDGINGTON, L.V., R.A. MARTIN, G.C. BRUIN e I.M. PARSONS,
1980. Systemic fungicides: a perspective after 10 years.
Plant Disease. Canadá, 64 (1): 19-23.
- ERWIN, D.C., 1969. Methods of determination of the sistemic
and fungitoxic properties of chemicals applied to plants
with emphasis on control of *Verticillium* wilt with
thiabendazole and benlate. *Worl Review Plant Control*,
London 8: 6-22.
- ERWIN, D.C., 1973. Systemic fungicides: Disease control,
translocation and mode of action. *Annual Review of*
Phytopathology, Palo Alto, 11: 389-421.
- FASSI, B. e A. FONTANA, 1966. Researches on ectotrophyc
mycorrhizae of *Pinus strobus* in nurseries. II. Mycorrhizae
of *Thelephora terrestris*, *Laccaria laccata* and *Hele-*
boma mesophaeum. *Allionia*, Turin, 18: 13-22.
- GRAND, L.F., 1976. Distribution, plant associates and
variation in basidiocarps of *Pisolithus tinctorius* in the
United States. *Mycologia*. Bronx, 68: 672-678.
- GRAY, L.E., J.B. SINCLAIR, 1970. Uptake and translocation
of systemic fungicides by soybean seedlings. *Phytopatho-*
logy. Saint Paul, 60: 1486-1488.

- GREENAWAY, W., 1973. Growth of *Helminthosporium* on media containing the fungicide benomyl and the assay of benomyl using *Botrytis cinerea*. *Annals of Applied Biology*. London, 73: 319-324.
- HACSKAYLO, E., 1965. *Thelephora terrestris* and mycorrhizae of virginia pine. *Forest Science*, Washington, 11: 401-404.
- HONG, L.T., 1976. Mycorrhizal short root development on *Pinus caribaea* seedlings after fungicidal treatment. *Malaysian Forest*. 39: 147-156.
- KAIS, A.G., G.A. SNOW e D.H. MARX, 1981. The effects of benomyl and *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on survival and growth of longleaf pine seedlings. *Southern Journal of Applied Forestry*, Mississipe, 5(4): 189-194.
- KELLEY, W.D., 1982. Effect of triadimefon (Bayleton) on ectomycorrhizae of loblolly and slash pines in Alabama. *Forest Science*. Washington, 28(2): 232-236.
- KENT, N.L., 1941. Absorption, translocation and ultimate fate on lithium in the wheat plant. *New Phytology*, 40: 291.
- KIRBY, A.H.M., 1972. Progress towards systemic fungicides. *PANS*, 18: 1-33.

- KIRKPATRICK, B.L. e J.B. SINCLAIR, 1976. The effect of concentration, exposure time and age of plant on uptake and translocation of two systemic fungicides in soybeans. *Phytopathology*, Saint Paul, 66: 102-105.
- KORMANIK, P.P., W.C. BRYAN e R.C. SCHULTZ, 1977. The role of mucorhizae in plant growth and development. *Physiologia Plantarum*. Copenhagen, 41: 1-10.
- KRUGNER, T.L., 1980. Doenças de *Pinus*. In: GALI, F., Manual de Fitopatologia. Vol II. Doenças das plantas cultivadas. São Paulo, Editora Ceres, p. 404-417.
- KRUGNER, T.L., 1982. Associações micorrízicas em árvores florestais. In: VII Seminário sobre atualidades e perspectivas florestais. Curitiba, PR. URPFC/EMBRAPA, p. 67-76.
- KRUGNER, T.L. e M. TOMAZELLO FILHO, 1980. Efeitos dos fungos ectomicorrízicos *Pisolithus tinctorius* *Thelephora terrestris* e de fertilização mineral no crescimento e sobrevivência de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* em condições de campo, no litoral sul da Bahia. *IPEF*, Piracicaba, 21: 41-51.
- LAMB, R.J. e B.N. RICHARDS, 1970. Effect of mycorrhizal fungi on the growth and nutrient status of slash and radiata pine seedlings. *Australian Forestry*, Canberra, 35: 1-7.

- LAMPKY, J.R. e J.E. PETERSON, 1963. *Pisolithus tinctorius* associated with pines and Missouri. *Mycologia*. Bronx, 55: 675-678.
- LAMPKY, J.R. e S.A. LAMPKY, 1973. *Pisolithus* in central Florida. *Mycologia*. Bronx, 65: 1210-1213.
- LOWY, B., 1964. *Pisolithus* in Louisiana. *Mycologia*. Bronx, 56: 319.
- MARX, D.H., 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizae fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizae fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59: 153-163.
- MARX, D.H., 1975. Mycorrhizae of exotic tree in the peruvian Andes and synthesis of ectomycorrhizae of mexican pines. *Forest Science*, Washington, 21: 253-358.
- MARX, D.H., 1976. Use of specific mycorrhizal fungi on tree roots for forestation of disturbed lands. In: Conference on Forestation of Disturbed Areas, Birmingham, April, 14-15, 1976 p. 47-65.
- MARX, D.H., 1977. Tree host range and world distribution of ectomycorrhizae fungus *Pisolithus tinctorius*. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, 23: 217-223.

MARX, D.H. e W.C. BRYAN, 1969. Colonization, isolation and cultural descriptions of *Thelephora terrestris* and others ectomycorrhizal fungi of short leaf pine seedlings grown in fumigated soil. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 48: 207-211.

MARX, D.H. e W.C. BRYAN, 1970. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on different conifer host. *Canadian Journal of Botany*. Ottawa, 48: 639-643,

MARX, D.H. e E.W. ROSS, 1970. Asseptic synthesis of ectomycorrhizae on *Pinus taeda* by basidiospores of *Thelephora terrestris*. *Canadian Journal of Botany*. Ottawa, 48: 197-198.

MARX, D.H. e W.C. BRYAN, 1971. Influence of ectomycorrhizae on survival and growth of asseptic seedlings of loblolly pine at high temperature. *Forest Science*, Washington, 17: 37-41.

MARX, D.H. e W.C. BRYAN, 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Science*, Washington, 21: 245-254,

- MARX, D.H. e S.J. ROWAN, 1981. Fungicides influence growth and development of specific ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings. *Forest Science*. Washington, 27(1): 167-176.
- MARX, D.H. e D.S. KENNEY, 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. In: N.C. SCHEYCK (ed.). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. p. 131-146. American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota.
- MARX, D.H., W.C. BRYAN, C.V. DAVEY, 1970. Influence of temperature on aseptic synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on loblolly pine. *Forest Science*, Washington, 16: 424-431.
- MARX, D.H., W.C. MORRIS e Y.G. MEXAL, 1978. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated and non fumigated nursery soil infested with different fungal symbionts. *Forest Science*, Washington, 24: 193-203.
- MARX, D.H., J.L. RUEHLE, D.S. KENNEY, C.E. CORDELL, J.W. RIFFLE, R.J. MOLINA, W.H. PAWUK, S. NAVRATIL, R.W. TINUS e O.C. GOODWIN, 1982. Commercial vegetative inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on container-grown tree seedlings. *Forest Science*. Washington, 28: 373-400.

MENTEM, J.O.M., C.C. MACHADO, E. MINUSSI, C. CASTRO e H. KIMATI, 1976. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass) Goid "in vitro". *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, 1: 57-66.

MEYER, W.A., J.F. NICHOLSON e J.B. SINCLAIR, 1971. Translocation of benomyl in creeping bentgrass. *Phytopathology*, Saint Paul, 61: 1198-1200.

MIKOLA, P., 1969. Importancia y tecnica de la inoculación micorrizica. Forestacion de zonas rasas. *Unasyuva*, 4. Roma, 23: 35-48.

MONT, R. e A. VILLON, 1975. Translocacion de benomyl en *Cucumis sativus* y sy acción protectora contra *Erysiphe cichoracearum*. *Fitopatologia*, 10(2): 96-100.

NEELY, D., 1975. Treatment of foliar diseases of woody ornamentals with soil injections of benomyl. *Plant Disease Reporter*. Washington, 59: 300-303.

NETZER, D. e I. DISHON, 1970. Effect of mode of application of benomyl on control of *Sclerotinia sclerotiorum* in Muskmelons. Washington, *Plant Disease Reporter*, 54: 909-912.

- PAWUCK, W.H., J.L. RUEHLE e D.H. MARX, 1980. Fungicide drenches affect ectomycorrhizal development of container-grown *Pinus palustris* seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, Ottawa, 10(1): 61-63.
- PETERSON, C.A. e L.V. EDGINGTON, 1970. Transport of the systemic fungicide, benomyl in bean plants. *Phytopathology*. Saint Paul, 60: 475-478.
- PETERSON, C.A. e L.V. EDGINGTON, 1971. Transport of benomyl into various plant organs. *Phytopathology*. Saint Paul, 61: 91-92.
- PEYRONEL, B., B. FASSI, A. FONTANA e J.M. TRAPPE, 1969. Terminology of mucorrhizae. *Mycologia*, Bronx, 61: 410-411.
- POWELL, W.M., F.F. HENDRIX e D.H. MARX, 1968. Chemical control of feeder root necrosis of pecans caused by *Pythium* species and nematodes. *Plant Disease Reporter*. Washington, 52: 577-578.
- PRAMER, D., 1953. Observations on the uptake and translocation of five actinomycete antibiotics by cucumber seedlings. *Annals of Applied Biology*, Ottawa, 40: 617-623.

- RICHARDS, B.N., 1961. Soil pH and mycorrhiza development in *Pinus*. *Nature*, London, 190:105-106.
- ROLIM, P.R.R., 1976. Translocação de benomyl em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 41 p. (Dissertação de Metrado).
- ROUCHAUD, J.P. e J.R. DECALLONE, 1974. A gas chromatographic method for the analysis of MBC in plants and soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22: 259-260.
- SCHRAMM, J.R., 1966. Plant colonization studies on block wastes from anthracite mining in Pennsylvania. *Transactions American Philosophical Society*, Indiana, 56: 1-94.
- SHEPARD, M.C., 1972. Factors limiting the systemic activity of fungicides. In: TAHORI, A.S., Ed. *Herbicides, Fungicides, Formulation Chemistry*, Israel, Gordon and Breach Publishers, vol. 5: 383-388.
- SMALLEY, E.B., C.J. MEYERS, R.N. JOHNSON, B.C. FLUKE e R. VIEAU, 1973. Benomyl for practical control of dutch elm disease. *Phytopathology*. Saint Paul, 63: 1239-1252.
- SNEL, M. e L.V. EDGINGTON, 1970. Uptake, translocation and decomposition of systemic oxathim fungicides in bean. *Phytopathology*. Saint Paul, 60: 1708-1716.

- THAPAR, H.S., D.P. PALIWAL, 1982. Studies on pine mycorrhiza in nursery seedlings. *The Indian Forester*. 108(1): 51-59.
- THAPLIYAL, P.N. e J.B. SINCLAIR, 1971. Translocation of benomyl, carboxin and chloroneb in soybean seedlings. *Phytopathology*, Saint Paul, 61: 1301-1302.
- THEODOROU, C., 1967. Inoculation with pure cultures of mycorrhizal fungi of radiata pine growing in partially sterilized soil. *Australian Forestry*, Canberra, 31: 303-309.
- THEODOROU, G. e M.F. SKINNER, 1976. Effects of fungicides on seed inocula of basidiospores of mycorrhizal fungi. *Australian Forest Research*, Canberra, 7: 53-58.
- TOMAZELLO FILHO, M., 1980. Influência dos fungos ectomicorrízidos *Thelephora terrestris* EHR. Ex. Fr. e *Pisolithus tinctorius* no desenvolvimento de espécies tropicais de Pinus. Piracicaba, ESALQ/USP. 116 p. (Tese de Doutorado).
- TOMAZELLO FILHO, M. e T.L. KRUGNER, 1980. Formação de ectomicorrizas e crescimento de mudas de *Pinus caribaea* var. *bahamensis* em solo de viveiro infestado artificialmente com *Thelephora terrestris* e *Pisolithus tinctorius* no litoral sul da Bahia. *IPEF*, Piracicaba, 21: 21-38.

- TOMAZELLO FILHO, M. e T.L. KRUGNER, 1981. Formação de ectomicorrizas e crescimento de mudas de *Pinus oocarpa*, *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. kessya* em solo de recipientes infestado artificialmente com *Thelephora terrestris* e *Pisolithus pinctorius*. *Summa Phytopathologica*. Piracicaba, 7: 73-85.
- TRAPPE, J.M., 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizas. *Botanical Review*, Ottawa, 28: 538-606.
- VAN DIEPEN, J.R., 1960. Bioassay of the systemic activity of cicloheximide semicarbazone in cucumber plants. *Phytopathology*, Saint Paul, 50: 795-797.
- WAIN, R.L. e G.A. CARTER, 1972. Nomenclature and definitions. In: MARSH, R.W., Ed. *Systemic Fungicides*, Londres Longman Group Limited: 1-5.
- WARNER, J.T. e L.V. EDGINGTON, 1980. Effect of foliar disease on uptake and translocation of fungicides in leaves. *Canadian Journal of Plant Pathology*. Ottawa, 2 (4): 194-200.
- WEIR, J.R., 1921. *Thelephora terrestris*, *T. fimbriata*, *T. caryophylllea* on forest trees seedlings. *Phytopathology*, Saint Paul, 11: 141-144.

- WILLHELM, S., 1966. Chemical treatments and inoculum potencial of soils. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto 4: 33-38.
- WITT, S.R.H. e E.L. CANCINO, 1975. Translocation of *and* systemic fungicides in strawberry and the effect on *Verticillium* sp. *Agricultura Técnica*, 35(2): 89-94.
- ZAK, B. e D.H. MARX, 1964. Isolation of mycorrhizal fungi from roots of individual slash pine. *Forest Science*. Washington, 10: 214-222.
- ZAMBOLIN, L. e G.M. CHAVES, 1983. Compostos sistêmicos recomendações para controle de doenças. In: Os defensivos agrícolas, utilização, toxicologia e legislação específicas. Brasília, ABEAS.