

1 INTRODUÇÃO

A armilariose causada pelo fungo *Armillaria* spp., é a principal doença em pínus no Brasil provocando o apodrecimento da casca e do lenho das raízes e do colo da planta, resultando na morte do hospedeiro. Este patógeno ataca diferentes espécies vegetais frutíferas, florestais, ornamentais, arbustivas e gramíneas, em todos os continentes. O ataque ocorre em plantas estabelecidas em áreas anteriormente ocupadas por florestas nativas ou plantadas ou em pomares infestados e, quando os hospedeiros foram plantados entre plantas infectadas. A infecção inicia-se em plantas ainda jovens, quando as raízes encontram as rizomorfas que se desenvolvem a partir dos tocos e de restos vegetais presentes no solo contendo inóculo do patógeno (HOOD et al., 1991).

A doença pode ser favorecida em plantas submetidas ao estresse, causado por fatores bióticos e abióticos, à má formação do sistema radicular, aos problemas causados pelo manejo inadequado da floresta e outros, associados com o potencial de inóculo presente no solo (IVORY, 1987).

Na parte aérea, os sintomas são semelhantes aos de outras podridões de raiz e caracterizam-se, inicialmente, por um amarelecimento geral das acículas, seguido por murchamento, bronzeamento e seca das mesmas. Quando todo o sistema radicular acha-se comprometido, ou tenha havido anelamento na região do colo, ocorre a morte da árvore.

Na sua maioria, as plantas morrem após o 2º ou 3º ano de implantação e o replantio torna-se inviável, pois as mudas que poderiam ser repostas, não conseguem atingir a altura do plantio original. Entretanto, a doença que se propaga principalmente por meio de rizomorfas, pode atingir as plantas mais próximas, aumentando o número de falhas e de árvores mortas, promovendo perdas econômicas. As medidas de controle recomendadas são de difícil aplicação e de eficiência duvidosa, por se tratar de um patógeno de solo. Na diagnose da doença, tem-se apenas identificado o gênero, sem a devida caracterização micológica da espécie de *Armillaria* associada.

Quantificações preliminares realizadas sobre a incidência da armilariose, em alguns focos, localizados em plantios jovens de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *P. taeda* (de 1 a 7 anos de idade) chegaram a 8,5 %. Avaliações em plantios com até 25 anos de idade, resultaram em 20 % de árvores doentes, em média. Houve uma tendência crescente do número de focos registrados com a doença nos últimos anos e o ataque tem se concentrado em árvores jovens, com até 5 anos de idade (AUER et al., 2003).

Há uma grande importância econômica do pínus para o setor florestal brasileiro, notadamente na região Sul do Brasil, com participação de 84 % espécies exóticas, somando 1.062 mil hectares plantados, sendo as predominantes *P. elliottii* var. *elliottii* e *P. taeda*, que representam 24 e 76% respectivamente (PINUS: uma alternativa de Mercado, 2002). Esta participação na produção florestal é por conseguinte uma fonte de riquezas para o setor industrial gerando um grande número de empregos e tributos, indispensáveis para o desenvolvimento de toda a região.

Em função do aumento no consumo de toras provenientes de florestas plantadas pela indústria de base florestal houve também um grande avanço na reposição e implantação de novos povoamentos florestais, no estado do Paraná entre 1997 e 2002 em relação aos anos anteriores (INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ, 2003).

Considerando-se todos esses fatores expostos, há também ainda uma falta de conhecimento mais detalhado sobre o patógeno e seu controle, assim como uma real avaliação dos prejuízos causados por esta doença, o que exigem um estudo mais aprofundado sobre a armilariose do pínus.

Os estudos foram desenvolvidos em plantios comerciais de *P. elliottii* var. *elliottii* e *P. taeda* e tiveram como objetivos gerais estudar a armilariose na região Sul do Brasil acerca dos seguintes pontos: (1) a etiologia; (2) a epidemiologia, avaliação de danos e perdas econômicas e, (3) o controle.

CAPÍTULO 1

ETIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO DE FOCOS DA ARMILARIOSE NA REGIÃO SUL DO BRASIL

1 INTRODUÇÃO

Em pesquisas sobre doenças de plantas, primeiramente, torna-se necessária a identificação do seu agente causal (etiologia), que é baseada em sintomas, sinais e corpos de frutificação (quando se trata de fungos). Importante, também é conhecer a distribuição da doença para se cobrir a variação da(s) espécie(s) associada(s) ao problema.

O estudo teve como objetivos específicos, determinar as áreas de ocorrência da armilariose em *P. elliotii* var. *elliotii* e *P. taeda* na região Sul do Brasil, e, identificar a espécie visando obter um maior conhecimento da doença e do agente causal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TAXONOMIA DO GÊNERO *Armillaria*

A taxonomia deste gênero envolve um processo que segundo PEGLER (2000, p. 83), foi STAUDE¹, o primeiro a elevar a tribo *Armillaria*, descrita por FRIES², para gênero incluindo quatro espécies: *A. mucidus*, *A. melleus*, *A. aurantius* e *A. robustus*. Posteriormente, SINGER³ rejeitou o nome do gênero dado por STAUDE entendendo que, o autor meramente elevou o status taxonômico proposto por FRIES, e não propôs um novo gênero. Entretanto SINGER recomendou *Armillaria* proposto por KUMMER⁴ (apud PEGLER, 2000, p. 83), como uma autoridade para o gênero. Esta visão tem sido amplamente contendida por DONK (1962), WATLING et al., (1982), VOLK e BURDSALL (1995) e BON (1997).

PEGLER (2000), afirma que SINGER usou o gênero *Armillariella* (P. Karst.), P. Karst., proposto por KARSTEN⁵, com *A. mellea*, enquanto utilizou *Armillaria* Kumm. para *A. luteovirens* Alb. & Schw.:Fr. As últimas espécies não foram relatadas como

¹ STAUDE ,F. **Die Schwamme Mitteleutschlands**, 148 p., 1857.

² FRIES, E.M. **Systema mycologicum I**, 520 p., 1821.

³ SINGER, R. The *Armillariella mellea* group. **Lloydia**, v.19, p.176-187, 1956.

⁴ KUMMER, P. Der Fuhrer in die Pilzkunde, Zerst, 146 p., 1871.

⁵ KARSTEN, P. A. Hymenomycetes Fennicae enumerati. **Acta Societatis pro Fauna et Flora Fennica** 2(1), 1881, 44 p.

A. mellea, e POUZAR⁶ citado por PEGLER (2000, p. 83) subseqüentemente propôs *Floccularia* como um novo gênero para a taxonomia.

O gênero *Armillariella* é agora recomendado como um sinônimo de *Armillaria* conforme a Nomenclatura do Código Internacional de Botânica, Artigo 14.4, pois ambos os nomes acima, são utilizados para as mesmas espécies (PEGLER, 2000).

O gênero *Armillaria*, pertence à ordem Agaricales e classe Basidiomycetes. SINGER (1986) colocou *Armillaria* com a Subtribo *Omphalinaea* Singer da Tribo *Tricholomateae* Singer junto com *Tricholoma* (Fr.) Kumm., um gênero da família *Tricholomataceae* Hein ex Pouzar.

A afirmação de que *A. mellea* seja o principal patógeno em *Pinus* é contraditória, pois estudos taxonômicos, conduzidos na década de 90, ampliaram consideravelmente o número de espécies de *Armillaria*. Estudos morfológicos e moleculares feitos por VOLK e BURDSALL (1995), citados por COETZEE et al. (2000), incluem pelo menos 36 diferentes espécies. A exemplo disto, SMITH et al. (1992), consideram *A. ostoyae* (Romagn.) Herink (= *A. obscura* (Pers.) Herinka) como patógeno em coníferas da família Pinaceae da Europa e América do Norte, enquanto que a maioria dos registros de armilariose na África do Sul sugerem que os patógenos em *Pinus* seriam *A. mellea*, *A. heimii* Pegler e *A. fuscipes* Petch. (COETZEE et al., 2000).

Entretanto, PEGLER (2000) cita que, 42 espécies são aceitas em todos os continentes, sendo encontradas na América Central e América do Sul, cerca de dez espécies. WATLING et al. (1991), mencionam oito espécies encontradas na América do Sul: *A. griseomellea* Singer, *A. montagnei* (Singer) Herink, *A. olivacea* (Rick.) Herink, *A. procera* Speggazzini, *A. puiggari* Speggazzini, *A. sparrei* Singer (Herink), *A. tigrensis* (Singer) Raith e *A. yungensis* (Singer) Herink. Entretanto, IVORY (1987), menciona uma nona espécie, *A. nova-zelandiae* (Stevenson) Boesewinkel, que além da América do Sul, ocorre também na Australásia, atacando *Pinus*, *Eucalyptus* e

⁶ POUZAR, Z. Nova genera macromycetum. **Ceszká Mykologie**, n. 11, p. 48-50, 1957.

outras espécies. Em concordância, COETZEE et al. (2001), a registrou em *P. oocarpa* e outras espécies na Austrália e Nova Zelândia.

2.2 SINTOMATOLOGIA E FAIXA DE HOSPEDEIROS

O gênero *Armillaria*, tem como corpo de frutificação os basidiocarpos ou basidiomas, que geralmente se formam ao redor e sobre os tocos podres ou de árvores já mortas por seu ataque, mas de difícil observação. Na continuidade do processo de infecção, os basidiocarpos produzem basidiosporos que, disseminados pelo vento, podem dar origem a infecções primárias (FIGURA 1). Segundo FERREIRA (1989) na sua ausência, é o micélio ou as rizomorfas, presentes em restos vegetais lenhosos como tocos, galhos ou raízes, que dão início às infecções (FIGURA 2A e 2B).

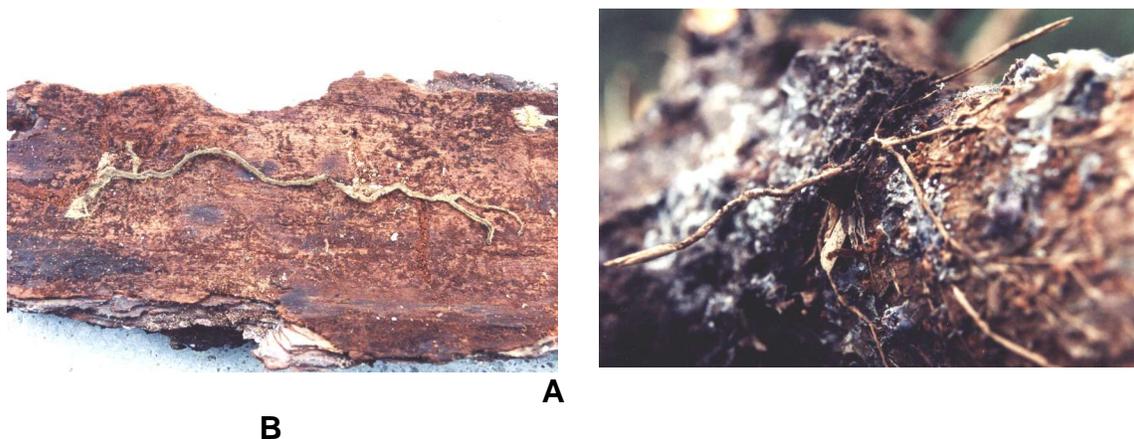
Para sua sobrevivência o fungo requer quantidades significativas de substrato energético, onde cresce saprofiticamente e pode infectar as raízes das árvores plantadas (FERREIRA, 1989).

Segundo, FOX (2000), muitas espécies de *Armillaria* são parasitas facultativos, mas outras são saprófitas obrigatórios ou simbiontes. A principal forma de expansão pode ser as rizomorfas emitidas a partir das placas miceliais (FIGURA 2B) que entram em contato e colonizam as raízes da planta hospedeira, infectando o floema e câmbio, separando o lenho da casca, matando o hospedeiro. Embora as rizomorfas permitam a infecção planta-planta por meio mecânico-enzimático, também as raízes saudáveis podem ser infectadas quando entram em contato com o micélio presente em raízes doentes. O autor relata que o processo de infecção depende de enzimas e toxinas produzidas pelo micélio e também, ressalta que as raízes injuriadas podem tornar-se bioquimicamente predispostas.



Fonte: Celso Garcia Auer (2002).

FIGURA 1 - BASIDIOCARPOS DE *Armillaria* sp. FORMADOS EM ÁRVORE DE *Pínus elliotii* var. *elliotii* MORTA.



Fonte: Celso Garcia Auer (2002).

FIGURA 2 - RIZOMORFAS DE *Armillaria* sp. A. INTERNAS, SOB A CASCA DE ÁRVORE JOVEM DE *Pínus elliotii*. var. *elliotii*. B. EXTERNAS, A PARTIR DA CASCA EM DIREÇÃO AO SOLO.

PEARCE e MALACZUK (1990) citam *Armillaria* spp. como causador de doença radicular e também de podridão de colo em florestas, pomares, árvores ornamentais e arbustos por todo o mundo e, também relatam que as rizomorfias são sua principal forma de expansão, particularmente em climas temperados.

COETZEE et al. (2000) relatam que a podridão de raízes causada por *Armillaria* foi considerada economicamente importante em espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* nos povoamentos da África do Sul desde o início do século XX. Espécies de *Armillaria* têm sido bem estudadas na América do Norte e Europa, mas têm recebido mínima atenção na África do Sul. A maioria dos registros de armilariose na África do Sul sugerem que *Armillaria mellea* é o principal agente causal.

Os sintomas que permitem a diagnose da doença são detectados nas raízes mais grossas e na base do tronco. Nestes locais, ocorre intensa exsudação de resina que acumula-se no solo, ao redor das raízes ou do tronco, formando uma crosta constituída de solo e resina solidificada. As placas miceliais de coloração esbranquiçada que são formadas na região da entre-casca podem se estender no tronco a mais de 1 m de altura. Este crescimento micelial é a característica mais importante para a diagnose da doença. O fungo pode também formar rizomorfias na região da entre-casca, no lugar de placas miceliais, quando a árvore está morta (KRUGNER e AUER, 1997),

Segundo a literatura, o patógeno pode ser isolado em meio BDA ou malte-ágar, descascando-se um ponto da raiz ou caule com lesão aparentemente nova, em franco progresso, da parte interna da casca ou superfície do lenho, no limite da lesão com o restante do tecido sadio. Então, os fragmentos de tecido doente podem ser removidos com um escalpelo flambado e transferidos para meio de cultura ao qual pode ser adicionado alguns antibióticos (FERREIRA, 1989).

Segundo FERREIRA (1989), há um consenso entre vários pesquisadores em considerá-la como doença importante, na primeira rotação da cultura, especialmente para plantações de pínus estabelecidas em áreas onde havia mata natural ou reflorestamento com espécie florestal suscetível de reconhecida capacidade

multiplicadora de inóculo do patógeno, principalmente em regiões úmidas, com temperatura moderada (FIGURA 3).



Fonte: Celso Garcia Auer (2002)

FIGURA 3 - TOCO DE ÁRVORE NATIVA COLONIZADA POR *Armillaria* sp. E SERVINDO COMO FONTE DE INÓCULO PARA ÁRVORE JOVEM DE PÍNUS.

Além disto, um fator determinante que contribui para a infecção e severidade do ataque pode ser a predisposição das árvores, pois árvores debilitadas por fatores ambientais, como seca, mau desenvolvimento do sistema radicular condicionado pelo recipiente da muda, ataque de insetos como a vespa da madeira, entre outros, podem tornar as árvores mais suscetíveis ao fungo (KRUGNER e AUER, 1997). Os autores ressaltam que a mortalidade tende a diminuir à medida que as plantas envelhecem, quando a fonte original do inóculo é exaurida e as árvores tornam-se mais resistentes

A predisposição à armilariose, pode ocorrer tanto por fatores bióticos quanto abióticos, podendo haver uma interação complexa entre as mudanças químicas induzidas pela desfolha causada por insetos e déficit hídrico, facilitando a colonização por *Armillaria* spp. e resultando na mortalidade das árvores WARGO (1996).

Em relação à faixa de hospedeiros, somente em coníferas, RAABE (1962) relacionou 27 espécies de *Pinus* hospedeiras de *A. mellea*. Os hospedeiros mais comuns, segundo IVORY (1987), são espécies de *Pinus*, especialmente *P. elliotii* e em seqüência *P. caribaea*, *P. kesiya*, *P. merkusii*, *P. patula*, *P. radiata* e *P. taeda*.

Os primeiros registros de *A. mellea* em coníferas no Brasil ocorreram em árvores de *P. elliotii* com um ano e meio de idade, em Castro, PR, e também em Joaçaba, SC, em 1961 (MAY, 1962). Também outras ocorrências da doença em *P. elliotii* e *P. taeda* foram constatadas, por meio de amostras procedentes dos municípios de Guarapuava/PR, e Campos Novos/SC, analisadas pela seção de Fitopatologia do Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas por CZAJA NETO e FONTOURA (1970).

No Cone Sul, BUTIN e PEREDO (1986), relataram a presença de *A. mellea* (Vahl.: Fr.) Kumm em *P. radiata* e, segundo GUILLAUMIN (2004), também foi registrado o fungo *A. sparrei* Singer (Henrik) pelo Dr. WRIGHT na Argentina.

No Brasil, foi constatada em espécies florestais como *Pinus* spp., *Araucaria* sp. e *Eucalyptus* sp., nos estados da Região Sul e Sudeste, não tendo sido constatada em plantios de espécies tropicais de *Pinus* (KRUGNER e AUER, 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 REGISTRO DE FOCOS E COLETA DE MATERIAL PARA ISOLAMENTO

Foram realizadas visitas técnicas em plantios de pínus, durante o período entre 2001 e 2004, em diferentes empresas florestais e propriedades rurais. Os povoamentos visitados estavam localizados em diversos municípios dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com idades variando entre 1 e 25 anos. As informações anteriores sobre focos da doença entre 1990 e 2000, foram obtidas dos registros feitos pelo Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Florestas, a partir de contatos com empresas florestais e pequenos produtores rurais com suspeita da presença da doença.

O levantamento cobriu parte de região Sul do Brasil, pois as informações analisadas originaram-se de demandas espontâneas de diagnósticos, em primeiro caso. Durante os estudos, novos casos foram registrados com auxílio de produtores e profissionais do setor florestal que tinham conhecimento da ocorrência em áreas próximas. Cada foco considerado neste estudo representou uma área florestal afetada pela doença, de mesma faixa etária, pertencente a uma empresa florestal.

Como sintomas típicos da armilariose foram considerados o amarelecimento geral da copa (FIGURA 4A), bronzeamento e seca das acículas, expressando a morte da árvore (FIGURA 4B), presença de exsudação de resina na base da árvore e a formação de placa micelial esbranquiçada na entre-casca do tronco e em raízes.

Foram coletadas as informações sobre a espécie, idade do povoamento florestal, rotação e proprietário da área. Também foram coletadas as coordenadas geográficas e altitude local, com um aparelho portátil que utiliza o sistema NAVSTAR - GPS (Navigation System with Time and Ranging-Global Positioning System). As coordenadas UTM (Projeção Universal Transversal de Mercator) registradas foram transformados em coordenadas de latitude e longitude, entretanto, quando não foi possível registrar as coordenadas locais, foram utilizadas as coordenadas da sede do município, onde estava localizado o foco da doença. Para processamento dos dados foi utilizado o SIG, Sistema de Informações Geográficas, por meio do programa ArcView, versão 3.2 – ESRI.

A**B**



FONTE: Celso Garcia Auer (2004)

FIGURA 4 – SINTOMAS DA DOENÇA EM COPA DE PÍNUS DECORRENTE DO ATAQUE DE *Armillaria* sp. A. AMARELECIMENTO B. SECA

3.2 MÉTODO DE ISOLAMENTO DO PATÓGENO

A ocorrência da armilariose foi determinada em campo por meio dos sintomas acima apresentados pelas árvores e, para a confirmação dos diagnósticos feitos no campo, foram coletadas amostras de troncos de plantas doentes e, em laboratório fez-se o isolamento em meio de cultura, inicialmente em meio BDA e depois em meio seletivo para *Armillaria*.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Florestas, Colombo, PR, onde os testes preliminares de isolamento foram feitos com os isolados disponíveis na coleção do laboratório.

No primeiro teste verificou-se a sensibilidade do patógeno ao fungicida benomil. O fungicida na concentração 2 ppm foi adicionado ao meio de cultura BDA (200 ml de infusão de batata; 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 ml de água destilada) e vertido em placas de Petri. Em cada placa foi transferido um disco de micélio crescendo em condições de ambiente de laboratório por 30 dias e posteriormente foram mantidas em câmara BOD à temperatura de 25 °C no escuro. Após 16 dias, foram retiradas porções das rizomorfias, da extremidade, mediana e basal da colônia e então foram transferidas para placas de Petri contendo meio BDA sem aditivos e mantidas em câmara BOD à 25 °C, no escuro.

Constatada a tolerância ao fungicida benomil, o passo seguinte foi testar o meio de cultura contendo antibióticos descrito por SANTOS et al. (1998), conforme os procedimentos abaixo descritos:

1) Ampicilina 500 mg: foi dissolvida 1 drágea em 10 ml de etanol 80 %, esta servindo como solução estoque. Foram dissolvidos 2 ml da solução estoque em 18 ml de água esterilizada (solução A) e, 10 ml desta solução foram adicionados em 1 litro de meio de cultura BDA.

2) Cloranfenicol 250 mg: foi dissolvida 1 drágea em 10 ml de água esterilizada, servindo como solução estoque. Foram dissolvidos 4 ml da solução estoque em 16 ml de água esterilizada (solução A) e, 4 ml da solução A foram adicionados em 1 litro de meio de cultura BDA.

3) O meio de cultura preparado (antibióticos + benomil) foi vertido em placas de Petri e, para cada placa foi transferido um disco de cultura de 5 mm e então, foram mantidas em câmara BOD à temperatura 25 °C no escuro.

Verificando-se que *Armillaria* sp. cresceu no meio seletivo contendo antibióticos e benomil, a etapa seguinte foi testá-lo para isolamento e compará-lo ao meio BDA. Foi utilizado tecido infectado, coletado preferencialmente do segmento inferior do tronco da planta atacada (colo), em seguida foi limpo para retirada de solo e outros resíduos com papel toalha. Separou-se a casca do lenho com uma faca ou lâmina previamente flambada e retirados os fragmentos da madeira doente, placas miceliais ou rizomorfias e plaqueados em placas de Petri, contendo os meios de cultura: (a) BDA sem aditivos e (b) BDA contendo benomil 2 ppm adicionado de antibióticos (ampicilina e cloranfenicol).

As placas foram incubadas em câmara de germinação tipo BOD à temperatura de 22 °C, considerada estar dentro do ótimo para *Armillaria*, verificado em ensaio preliminar (GOMES et al., 2002), a fim de permitir o desenvolvimento do fungo nos meios de cultura. Pequenas porções do meio contendo o micélio da borda das colônias em desenvolvimento foram transferidas para tubos de ensaio, ou para as placas contendo os meios testados para purificação do patógeno.

Ainda assim, houve elevada contaminação com fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus*, tornando muito difícil o isolamento utilizando-se desses dois meios de cultura. Decidiu-se por elaborar outro meio seletivo.

No segundo teste de meio seletivo, usou-se infusão de 200 g de batata picada, 20 g de dextrose, 20 g de ágar (constituintes do meio BDA), ao qual adicionou-se 3,3 mg de rosa bengala, 20 mg de benomyl, 250 mg de cloranfenicol, ingredientes derivados dos meios de Martin Modificado e Kuhlman-Hendrix (KUHLMAN e HENDRIX, 1962), segundo formulações descritas por TUIITE (1969), 10 ml de etanol 96 ° G.L., 1 ml de solução de ácido láctico a 25 % . Todos os ingredientes foram misturados antes da autoclavagem (120 °C, 1 atm., 15 min.). O meio foi vertido em placas de Petri, tubos de ensaio e vidros de penicilina para verificar a viabilidade de uso. Para testar a eficiência do meio, fragmentos de tecidos doentes, rizomorfos e de placas miceliais foram retirados de plantas doentes de *P. elliotii* var. *elliotii*, *P. taeda* e transferidos para as placas, tubos e vidros de penicilina contendo o meio em teste e mantidos em câmara tipo BOD, à temperatura de 22 °C, no escuro, para incubação e avaliação (GOMES e AUER, 2004).

Após a purificação das colônias do patógeno em meio seletivo, estas foram repicadas para placas de Petri contendo meio BDA, para a produção e conservação do inóculo.

3.3 CONSERVAÇÃO E ENVIO DE ISOLADOS PARA IDENTIFICAÇÃO

Devido à dificuldade de se obter os basidiocarpos em condições naturais e *in vitro* e, também pela impossibilidade de identificação das espécies de *Armillaria* no Brasil, decidiu-se pela remessa de isolados para identificação no exterior.

Para a conservação e envio, foram retirados fragmentos das culturas e repicados para vidros de penicilina contendo BDA. Após o desenvolvimento das culturas puras, os vidros foram lacrados e conservados em BOD no escuro, à 22 °C. Os isolados foram então enviados aos cuidados do Dr. Jean-Jacques Guillaumin, INRA - Universidade de Clermont , França, que se prontificou a auxiliar na identificação dos isolados com base em testes de pareamento de culturas com

isolados de sua coleção. Em uma primeira fase o fungo é cultivado *in vitro* utilizando de diferentes meios de cultura visando a formação de basidiomas e produção de basidiosporos, que originam o isolado haplóide. O teste consiste no pareamento entre o isolado haplóide a ser identificado com isolados haplóides representantes de espécies às quais há possibilidade deste pertencer. O pareamento é realizado em placas de Petri contendo malte-ágar. Quando as culturas pertencem à mesma espécie, há o cruzamento entre elas e, quando não pertencem aparece a formação de linha pigmentada no meio de cultura na região de contato entre as culturas.

Posteriormente, Dr. Guillaumin enviou também exemplares ao Dr. Jean Bérubé, do Canadian Forest Service, Canadá, especialista em *Armillaria*, para identificação. Foi utilizado o método que consiste na amplificação de PCR da partes não descritas do ribossoma DNA, ITS (Internal Transcribed Spacer) e IGS (Intergenic Spacer Region) seguido por RFLP com uma ou poucas enzimas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 LOCALIZAÇÃO E FAIXA DE HOSPEDEIROS

Os dados de distribuição da armilariose na região Sul do Brasil, obtidos de 1990 até outubro/04 estão contidos nas TABELAS 1, 2, 3 e 4, para uma melhor visualização da distribuição espacial, também foram plotados no mapa da região Sul do Brasil (FIGURA 5).

TABELA 1 - LOCALIZAÇÃO DOS FOCOS DE ARMILARIOSE ENTRE 1990 E 2000, EM *Pinus elliottii* var. *elliottii* EM FUNÇÃO DO MUNICÍPIO/ESTADO, CLASSE ETÁRIA, ROTAÇÃO E COORDENADAS GEOGRÁFICAS

Estado/Município	Classe etária (anos)	Rotação	Latitude (S)	Longitude (W)
Paraná				
Pinhão	8 a 10	1 ^a	25°42'	51°39'
Guarapuava	3 a 4	1 ^a	25°24'	51°27'
Piraí do Sul	4	1 ^a	24°34'	49°56'
Inácio Martins	8	1 ^a	25°34'	51°04'
Irati	18	1 ^a	25°28'	50°39'
Santa Catarina				
Rio Negrinho	4	1 ^a	26°21'	49°43'
Calmon	10	1 ^a	26°36'	51°06'
Painel	6	Nd	27°55'	50°06'
Otacílio Costa	6	Nd	27°28'	50°07'
Fraiburgo	6	1 ^a	27°01'	50°55'
Rio Grande do Sul				
Canela	3 a 5	Nd	29°22'	50°49'

Fonte: Embrapa Florestas

TABELA 2 - LOCALIZAÇÃO DOS FOCOS DE ARMILARIOSE ENTRE 1990 E 2000 EM *Pinus taeda* EM FUNÇÃO DO MUNICÍPIO/ESTADO, CLASSE ETÁRIA, ROTAÇÃO E COORDENADAS GEOGRÁFICAS

Estado/Município	Classe etária (anos)	Rotação	Latitude (S)	Longitude (W)
Paraná				
Guarapuava	1 a 2	Nd	25°24'	51°27'
Santa Catarina				
Rio Negrinho	4	1 ^a	26°15'	49°31'
Três Barras	1 a 2	Nd	26°06'	50°19'

Fonte: Embrapa Florestas

TABELA 3 - LOCALIZAÇÃO DOS FOCOS DE ARMILARIOSE ENTRE 2001 E 2004 EM *Pinus elliottii* var. *elliottii* EM FUNÇÃO DO MUNICÍPIO/ESTADO, CLASSE ETÁRIA, ROTAÇÃO E COORDENADAS GEOGRÁFICAS

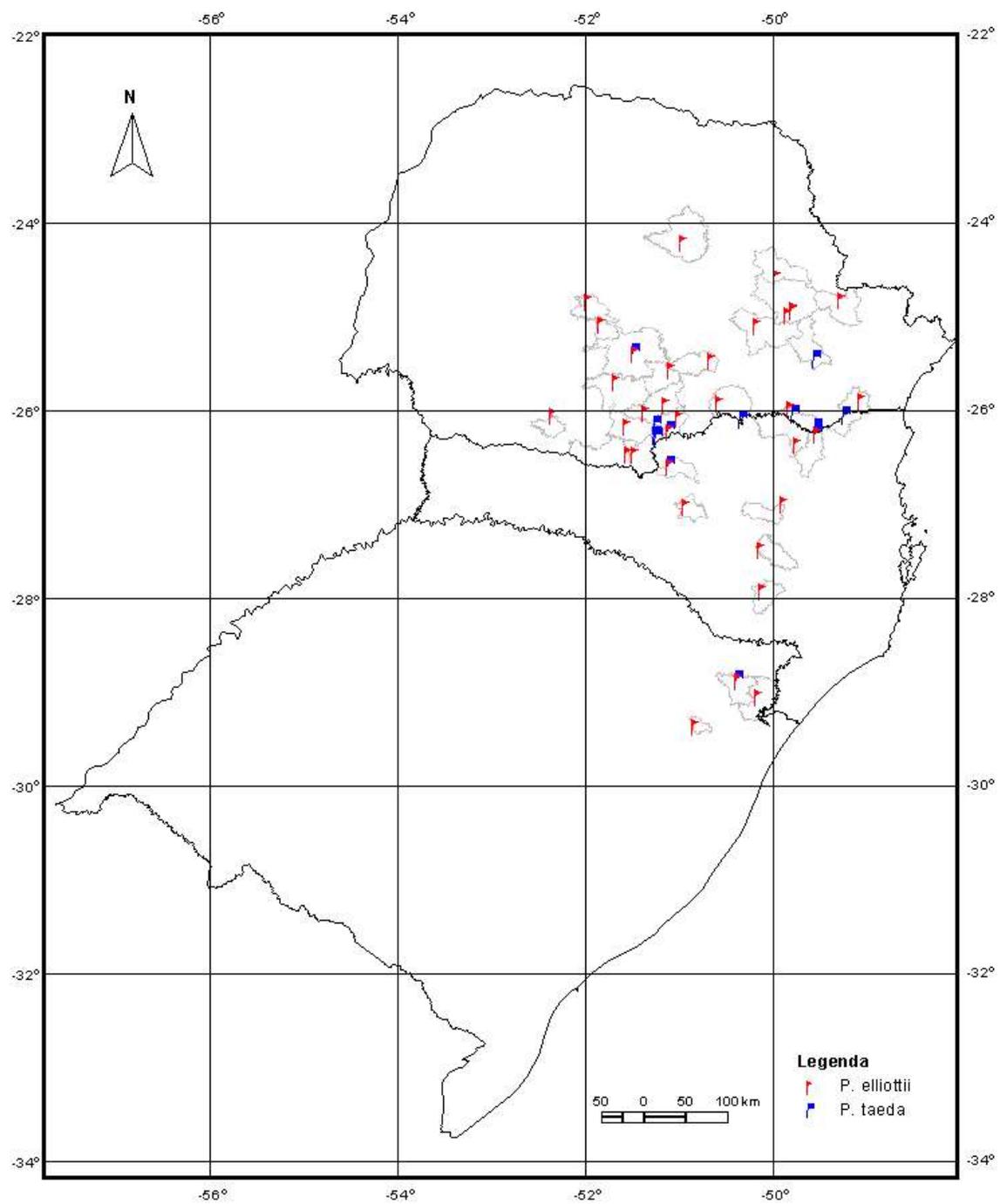
Estado/Município	Classe etária (anos)	Rotação	Latitude (S)	Longitude (W)
Paraná				
Castro	3 a 5	2 ^a	24°58'	49°49'
Santa Maria do Oeste	18 a 20	1 ^a	24°50'	51°57'
União da Vitória	2	1 ^a	26°13'	51°05'
União da Vitória	6 a 7	1 ^a	26°05'	50°59'
União da Vitória	15	1 ^a	26°13'	51°05'
Cerro Azul	1 a 2	1 ^a	24°49'	49°15'
Cerro Azul	20	1 ^a	24°49'	49°15'
Castro	1 a 2	1 ^a	24°55'	49°46'
Ortigueira	1 a 2	1 ^a	24°12'	50°57'
Campina do Simão	25	1 ^a	25°04'	51°49'
Cruz Machado	2 a 4	1 ^a	25°56'	51°08'
Cruz Machado	12	1 ^a	26°01'	51°21'
General Carneiro	4	2 ^a	26°27'	51°28'
General Carneiro	7	1 ^a	26°28'	51°32'
Bituruna	3	1 ^a	26°09'	51°33'
Ponta Grossa	7	2 ^a	25°06'	50°09'
São Mateus do Sul	1	1 ^a	25°55'	50°33'
Tijucas do Sul	5 a 8	1 ^a	25°54'	49°02'
Castro	1 a 2	1 ^a	24°55'	49°46'
Rio Negro	2	2 ^a	25°58'	49°48'
Guarapuava	2	2 ^a	25°24'	51°27'
Mangueirinha	4	2 ^a	26°03'	52°19'
Santa Catarina				
Dona Emma	1 a 2	1 ^a	27°00'	49°52'
Rio Negrinho	12	1 ^a	26°15'	49°31'
Rio Grande do Sul				
Jaquirana	1 a 2	1 ^a	28°53'	50°21'
Cambará do Sul	Nd	Nd	29°03'	50°09'

Nd = dado não disponível

TABELA 4 - LOCALIZAÇÃO DOS FOCOS DE ARMILARIOSE ENTRE 2001 E 2004 EM *Pinus taeda* EM FUNÇÃO DO MUNICÍPIO/ESTADO, CLASSE ETÁRIA, ROTAÇÃO E COORDENADAS GEOGRÁFICAS

Estado/Município	Classe etária (anos)	Rotação	Latitude (S)	Longitude (W)
Paraná				
União da Vitória	1	1 ^a	26°13'	51°05'
Campo Largo	1 a 2	1 ^a	25°27'	49°31'
Porto Vitória	2 a 3	2 ^a	26°09'	51°13'
Porto Vitória	4	1 ^a	26°17'	51°13'
Porto Vitória	1	1 ^a	26°17'	51°14'
Rio Negro	24	1 ^a	26°03'	49°45'
Santa Catarina				
Calmon	1 a 3	1 ^a	26°36'	51°06'
Campo Alegre	4 a 5	2 ^a	26°04'	49°13'
Rio Negrinho	1 a 2	2 ^a	26°12'	49°31'
Calmon	1	2 ^a	26°36'	51°06'
Rio Grande do Sul				
Jaquirana	1 a 2	1 ^a	28°53'	50°21'

FIGURA 5 - MAPA DE DISTRIBUIÇÃO DOS FOCOS DE ARMILARIOSE POR ESPÉCIE DE *Pinus* NA REGIÃO SUL DO BRASIL



A análise das áreas vistoriadas revelou que a principal espécie atacada foi o *P. elliotii* var. *elliotii* com 72,5 % dos registros seguida por *P. taeda* (27,5 %). Em nenhuma outra espécie de *Pinus* foram observados focos de armilariose, possivelmente por serem plantadas em menor escala, na região, na forma de arboretos, plantios experimentais e comerciais. São exemplos, as espécies *P. caribaea*, *P. greggii*, *P. maximinoi*, *P. oocarpa*, *P. patula*, e *P. tecunumanii*. Atualmente, a área plantada com *P. elliotii* var. *elliotii* é inferior à plantada com *P. taeda*, 24 e 76 %, respectivamente (PINUS: uma alternativa de Mercado, 2002), porém o maior número de registros de ocorrência foi em *P. elliotii* var. *elliotii* concordando com IVORY (1987), que cita a maior suscetibilidade desta espécie em relação a *P. taeda*.

A diagnose da doença revelou algumas informações que podem ser acrescentadas ao que foi relatado por KRUGNER e AUER (1997), como por exemplo, a presença de placas miceliais se estendendo desde a base do tronco até quatro metros de altura. A presença de basidiocarpos foi observada em apenas três focos, durante o inverno e, a presença de rizomorfias pode ser visualizada sob a casca das árvores mais velhas e logo após o isolamento em meio de cultura, quando forma-se a colônia micelial de coloração clara a escura.

Observou-se que todos os focos ocorreram entre as latitudes 24 e 30 °S e em altitudes que variaram entre 519 e 1176 m, destacando a sua distribuição em locais com temperaturas mais amenas, inclusive com a ocorrência de geadas. Estas informações indicam que a sua distribuição geográfica fica restrita a locais com temperaturas amenas, e assim explicaria a ausência em locais com climas tropicais e subtropicais, concordando com a literatura (RISHBETH, 1968; RISHBETH, 1978).

Outras informações podem ser acrescentadas para ilustrar a distribuição atual da doença, enfatizando que, do número de registros desde 1990 até outubro de 2004, em torno de 80 % destes foram constatados nos últimos cinco anos, um acréscimo quatro vezes superior o número de registros ocorridos na década de 90. Observando-se os dados em relação à rotação que pertencem, verificou-se que 25 % dos focos de armilariose ocorreram em plantios de segunda rotação, portanto isso

pode ajudar explicar o aumento da ocorrência da doença, verificado na década atual. Ressalte-se que estas informações foram tomadas em relatos espontâneos de produtores e que se feita uma investigação mais minuciosa o número de casos seria maior.

Provavelmente, a doença esteve presente na primeira rotação da cultura, devido às exigências do patógeno (parasita facultativo), mas talvez alguns fatores tenham mascarado a sua presença. Entre esses, o grande avanço do setor florestal proporcionado pelos incentivos fiscais, que promoveu a implantação de grandes maciços florestais pode ter dificultado os trabalhos de acompanhamento dos plantios, em decorrência de vários fatores, entre eles o baixo valor de mercado da matéria prima florestal, que não era atrativo o suficiente para manter a sustentabilidade do sistema silvicultural. Todavia a mortalidade ocorreu, talvez em proporções não significativas, não alertando para as perdas econômicas, que por conseguinte não despertou o interesse em diagnosticá-lo, encarando-o como perdas normais dentro de um projeto.

Outro fator que também pode ter contribuído para o agravamento da ocorrência da armilariose em plantios de pínus é o aumento muito expressivo da área plantada verificado a partir do ano de 1997, se for tomado como referencial o estado do Paraná (INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ, 2003). Tal fato justificaria os mais recentes registros observados, predominantemente em plantios jovens, com idade inferior a 5 anos, os quais participaram em 66,7 % dos focos registrados, enquanto na classe etária de 6 a 10 anos o número de focos, foi reduzido a 19,6 % do total. Entretanto em plantios adultos, acima de 15 anos, apesar de poucos focos observados, a incidência atingiu em média 20 %, causando perdas irreparáveis até o final da rotação e, podendo causar um problema ainda maior na rotação seguinte, se não forem tomados os devidos cuidados para reduzir as prováveis perdas.

Em todo o trabalho de coleta de dados e de material para isolamento visando o mapeamento de *Armillaria* na região Sul do Brasil, com suas respectivas coordenadas geográficas e espécie hospedeira, foram obtidos os isolados que estão contidos na TABELA 5. Observou-se que dos 17 isolados, 14 tiveram como

hospedeiro *P. elliotii* var. *elliotii*, ou seja 82,35 % do total, destacando novamente a maior suscetibilidade apresentada por esta espécie. Destes foram enviados 10 isolados (A-1 a A-10), para identificação no exterior

TABELA 5 - RELAÇÃO DE ISOLADOS DE *Armillaria* sp., POR MUNICÍPIO/ESTADO DE ORIGEM E AS RESPECTIVAS COORDENADAS GEOGRÁFICAS

Isolado	Município/Estado	Hospedeiro	Altitude (m)	Latitude (S)	Longitude (W)
A-1	Piraí do Sul/PR	<i>P. elliotii</i>	992	24°34'	49°56'
A-2	Piraí do Sul/PR	<i>P. elliotii</i>	992	24°34'	49°56'
A-3	Rio Negrinho/SC	<i>P. elliotii</i>	797	26°31'	49°43'
A-4	General Carneiro/PR	<i>P. elliotii</i>	1095	26°28'	51°32'
A-5	Santa Maria do Oeste/PR	<i>P. elliotii</i>	940	24°50'	51°57'
A-6	Calmon/SC	<i>P. taeda</i>	1119	26°36'	51°06'
A-7	Campo Alegre/SC	<i>P. taeda</i>	Nd	26°04'	49°13'
A-8	Castro/PR	<i>P. elliotii</i>	895	24°55'	49°46'
A-9	Tijucas do Sul/PR	<i>P. elliotii</i>	Nd	25°54'	49°02'
A-10	Castro/PR	<i>P. elliotii</i>	1033	24°58'	49°49'
A-11	Rio Negrinho/SC	<i>P. taeda</i>	707	26°12'	49°31'
A-12	São Mateus do Sul/PR	<i>P. elliotii</i>	789	25°55'	50°33'
A-13	Cambará do Sul/RS	<i>P. elliotii</i>	Nd	29°03'	50°09'
A-14	Dona Emma/SC	<i>P. elliotii</i>	519	27°00'	49°52'
A-15	Castro/PR	<i>P. elliotii</i>	951	24°55'	49°46'
A-16	Guarapuava/PR	<i>P. elliotii</i>	Nd	25°24'	51°27'
A-17	Rio Negro/PR	<i>P. elliotii</i>	909	25°58'	49°48'

Nd = dado não disponível

4.2 IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE DE *Armillaria*

Os primeiros pareamentos realizados entre os isolados, revelaram que A-1 e A-2 pertencem ao mesmo grupo somático, entretanto provavelmente não possuem o mesmo genótipo, pois são morfologicamente diferentes (GUILLAUMIN, 2004a).

Dos isolados A-1, A-2, A-3, A-4, A-5 e A-6, apenas o A-6 havia frutificado *in vitro*. Assim, foi possível obter 10 isolados haplóides (monospóricos) do isolado A-6 e, posteriormente selecionados os 7 melhores, conforme a compatibilidade. Estes foram pareados com outras espécies de *Armillaria*, originárias de diversas regiões do mundo, para auxiliar na sua taxonomia (GUILLAUMIN, 2004b) e alguns exemplares foram enviados ao Canadá, para sequenciamento genético.

Foram seqüenciados dois genótipos de A-6, os quais demonstraram serem homólogos a *A. luteobubalina* (Kile e Watling) da Austrália. Em porções o

sequenciamento foi idêntico com *A. luteobubalina*, em outras foi idêntico com *A. sparreii* (Sing.) Henrik e em outras porções foram diferentes de todos os outros da coleção. Suspeitou-se da ocorrência de novas espécies ou espécies irmãs de *A. sparreii* e *A. luteobubalina*, que é um fenômeno comum com *Armillaria* no hemisfério norte onde *A. ostoyae* é espécie irmã de *A. borealis* e *A. gemina*. Da mesma forma, *A. luteobubalina* que está presente na Austrália poderia também ocorrer na América do Sul e juntamente com *A. sparreii*, serem ancestrais das espécies que ocorrem no Brasil (BÉRUBÉ, 2004).

Posteriormente, o isolado A-1 também frutificou *in vitro* e os isolados haplóides de A-1 e A-6 foram pareados com *A. novae-zelandiae*, *A. hinnulaeae* e *A. fumosa*, mostrando-se incompatíveis, mas quando pareados com *A. luteobubalina* demonstraram compatibilidade (GUILLAUMIN, 2005).

Desse modo, tem-se a seguinte situação, dos 10 isolados enviados, apenas em relação a A-1, A-2, A-3, A-4, A-5 e A-6, podemos concluir que, A-1 e A-2, procedentes de Pirai do Sul/PR e A-6 procedente de Calmon/SC, foram identificados como *A. luteobubalina* e os outros podem pertencer a uma segunda espécie. Quanto aos demais isolados, A-7 a A-10, suas espécies ainda não foram determinadas pois estão sendo identificados.

A identificação da espécie de *Armillaria* presente na região Sul do Brasil revelou que *A. mellea* (Vahl: Fr.) P. Kumm., não é a espécie predominante, como foi relatado por MAY (1962) e, acrescentando ainda que a literatura registrou esta espécie de ocorrência apenas na Europa (PEGLER, 2000). A ocorrência de *A. luteobubalina* apenas na Australásia (PEGLER, 2000), agora pode ter também a sua ocorrência registrada na América do Sul. Esta é a décima espécie de *Armillaria*, que ocorre neste continente que também é comum na Australásia, da mesma forma que *A. novae-zelandiae* (IVORY, 1987).

5 CONCLUSÕES

O hospedeiro principal é *Pinus elliottii* var. *elliottii*.

A distribuição geográfica dos focos mostrou a presença da doença nos três estados da região Sul, concentrando-se em região de planalto.

A doença foi verificada em todas as idades das plantas hospedeiras.

Até o momento, descarta-se a possibilidade de *Armillaria mellea* (Vahl: Fr.) P. Kumm., estar presente na região Sul do Brasil e o agente causal da armilariose em pínus seria *Armillaria luteobubalina* (Kile e Watling).

REFERÊNCIAS

AUER, C. G.; GOMES, N. S. B.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Novas ocorrências da armilariose em *Pinus* no Sul do Brasil. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 29, n. 2, p. 205-207, 2003.

BÉRUBE, J. **Armillaria** [mensagem de trabalho]. Mensagem recebida por: <JBerube@exchange.cfl..forestry.ca em>. em 30 set. 2004.

BON, M. Flore Mycologique d'Europe: Tricholomataceae (2) Clitocybeae. **Document Mycologique Mémoire Hors séries 4**, 1997.

BUTIN, H.; PEREDO, H. L. **Hongos parásitos en coníferas de América del Sur**. Bibliotheca Mycológica, Band 101, Cramer, Berlin Stuttgart, 1986, 100 p.

COETZEE, M. P. A.; WINGFIELD, B. D.; BLOOMER, P.; RIDLEY, G. S.; KILA, G. A.; WINGFIELD, M. J. Phylogenetic relationships of Australian and New Zealand *Armillaria* species. **Mycologia**. The Mycological Society of America, Lawrence, p. 887-896, 2001.

COETZEE, M. P. A.; WINGFIELD, B. D.; COUTINHO, T. A.; WINGFIELD, M. J. Identification of the causal agent of Armillaria root rot of *Pinus* species in South Africa. **Mycologia**. The Mycological Society of America, Lawrence, p. 777-785, 2000.

CZAJA NETO, F.; FONTOURA, O. S. Nova constatação de armilariose em *Pinus taeda* e *P. elliottii*. **Rev. Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas**. Curitiba, n. 15, p. 8, 1970.

DESCHAMPS, J. R.; WRIGHT, J. E. **Documentos de Trabajo**. Micosis de importancia florestal en el Cono Sur de América, Faculdade de Ciencias Agrarias, Universidade de Belgrano, Buenos Aires, 24p., 2001.

DONK, M. A. The generic names proposed for Agaricaceae. **Beihefte von Nova Hedwiga**, v. 5, 1962, 530 p.

FERREIRA, F. A. **Patologia Florestal; principais doenças florestais no Brasil**. Sociedade de Investigações Florestais, Viçosa, 1989, 570 p.

FOX, R. T. V. Biology and life cycle. In: FOX, R. T. V. (Ed.) **Armillaria Root Rot: Biology and Control of Honey Fungus**, Andover, cap. 1, 1-42, 2000.

GOMES, N. S. B.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Temperaturas para desenvolvimento de *Armillaria* sp. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.

69, supl., 2002, p. 278-279. Edição dos Resumos da 15ª Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo 2002.

GUILLAUMIN, J. - J. **Isolates** [mensagem de trabalho]. Mensagem recebida por: <guillaum@clermont.inra.fr em>. em 16 fev. 2004a.

GUILLAUMIN, J. - J. **Sexual system of isolate A6 from Brasil**. [mensagem de trabalho]. Mensagem recebida por: <guillaum@clermont.inra.fr em>. em 16 set. 2004b.

GUILLAUMIN, J. - J. **Armillarias from Brazil**. [mensagem de trabalho]. Mensagem recebida por: <guillaum@clermont.inra.fr em>. em 08 abr. 2005.

HOOD, I. A.; REDFERN, D. B.; KILE, G. A. *Armillaria* in Planted Hosts. In: SHAW, C. G., III; KILE, G. A. (Ed.) **Armillaria Root Disease**, Agriculture Handbook n.691, Forest Service-USDA, Washington, D.C., 1991, p. 122-149.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. **Desenvolvimento florestal: 1995-2002 Governo do Estado do Paraná**. Curitiba, [2003 ou 2004]. Não paginado.

IVORY, M. H. **Diseases and disorders of pines in the tropics; a field and laboratory manual**. Oxford, Oxford Forest Institute, 92p, 1987.

KRUGNER, T. L.; AUER, C. G. Doenças dos pinheiros. In: **Manual de Fitopatologia**, KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). 3ª Ed., São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, cap. 56, p. 584-593, 1997.

KUHLMAN, E. G.; HENDRIX, F. F. A selective medium for the isolation of *Fomes annosus*. **Phytopathology**, v. 52, n. 12, p. 1310-1312, 1962.

MASUKA, A. The incidence of *Armillaria* root and butt diseases in *Pinus* spp. plantations in Zimbabwe. **Commonwealth Forestry Review**. Bicester, v. 68, n. 2, p. 121-124, 1989

MAY, L. C. Uma armilariose em *Pinus elliottii* Engel. **Silvicultura em São Paulo**, v. 1, n. 1, p.71-84, 1962.

PEARCE, M. H.; MALAJCZUK, N. Factors affecting growth of *Armillaria luteobubalina* rhizomorphs in soil. **Mycological Research**, Cambridge, n. 94 (1) p. 38-48, 1990.

- PEGLER, D. N. Taxonomy, nomenclature and description of *Armillaria*. In: FOX, R. T. V, (Ed.) **Armillaria Root Rot: Biology and Control of Honey Fungus**, p. 81-93, Andover, 2000.
- PINUS: uma alternativa de Mercado. **Revista da Madeira**, Curitiba, dez. 2002. 166p. Edição especial.
- RAABE, R. D. Host list of the root rot fungus, *Armillaria mellea*. *Hilgardia*, Berkeley, v. 33, n. 2, p.25-88, 1962.
- RISHBETH, J. Effects of soil temperature and atmosphere on growth of *Armillaria* rhizomorphs. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, n. 70 (2), p. 213-220, 1978.
- RISHBETH, J. The growth rate of *Armillaria mellea*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, n. 51(3 e 4), p. 575-586, 1968.
- SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Caracterização de tipos de sintomas da gomose da acácia-negra (*Acacia mearnsii*) no Sul do Brasil. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 37, p. 31-40, jul./dez., 1998.
- SINGER, R. **The Agaricales in modern taxonomy**. Edit. 4, 981p., 88pl. Koenigstein: Koeltz Scientific Books, 1986.
- SMITH, I. M.; DUNEZ, J.; LELLIOTT, R. A.; PHILIPPS, D. H.; ARCHER, S. A.; **Manual de enfermedades de las plantas**. Madrid: Ed. Munid-Prensa, 1992, 671p.
- TUITE, J. **Plant pathological methods. Fungi and bacteria**. Burgess Publishing company, Minneapolis, 1969, 239.
- WARGO, P. M. Consequences of environmental stress on oak: predisposition to pathogens. **Annual Science Forestry**, n. 53, p. 359-368, 1996.
- WATLING, R.; KILE, G. A.; BURDSALL JR, H. H. Nomenclature , Taxonomy, and identification. In: SHAW, C. G.; III; KILE, G. A. (Ed.). **Armillaria Root Disease**. Agriculture Handbook, n. 691, Forest Service-USDA, Washington, D. C., p. 1-9, 1991.
- WATLING, R.; KILE, G. A.; GREGORY, N. M. The genus *Armillaria* – nomenclature, typification, the identity of *Armillaria mellea* and species differentiation. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, n. 78 (2), p. 271-285, 1982.
- VOLK, T. J.; BURDSALL, H. H. A nomenclatural study of *Armillaria* and *Armillariella* species. **Synopsis Fungorum**, v.8, 121p., 1995.

CAPÍTULO 2

DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA ARMILARIOSE E AVALIAÇÃO DE DANOS E PERDAS

INTRODUÇÃO

As diferentes fases do ciclo da relação planta x hospedeiro, sendo eles a infecção, a colonização, a produção de inóculo, a dispersão e a sobrevivência,

constituem-se nos elementos necessários para o desenvolvimento de epidemias em plantas. Todos esses processos podem ser afetados, pelos fatores meteorológicos, principalmente pela temperatura e umidade (BEDENDO, 1995).

No entanto, o efeito da temperatura sobre as atividades do patógeno é menos marcante que aquele exercido pela umidade. A maioria dos patógenos, particularmente aqueles presentes em regiões tropicais e subtropicais, é capaz de crescer numa ampla faixa de temperatura. Nestas regiões, a temperatura não chega a atuar como fator limitante mas, temperaturas muito altas podem provocar dessecação de estruturas do patógeno presentes na fonte do inóculo. Em áreas de clima temperado, as temperaturas baixas do período de inverno levam à paralisação das atividades do patógeno ou mesmo causam sua morte (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996).

Para os fungos do gênero *Armillaria*, fatores como a pressão de inóculo presente no solo, a cobertura vegetal anterior, entre outros, também podem exercer grande influência na epidemiologia da armilariose. As operações utilizadas para preparo de solo, muitas vezes dependem da topografia local. A limitação do processo de mecanização e da limpeza da área, impedem a remoção de restos vegetais, estes, podendo servir como fonte de inóculo de patógenos radiculares.

Problemas decorrentes da qualidade das mudas utilizadas, em especial a má formação do sistema radicular, causando o envelhecimento, quer por recipiente inadequado ou pelo tempo além do necessário que permaneceram no viveiro, podem contribuir para a predisposição à armilariose. Considera-se assim, as mudas supostamente plantadas em condições de estresse e também submetidas às condições climáticas possivelmente desfavoráveis. A deformidade no processo de crescimento das raízes, podem induzir a um desenvolvimento superficial e, como conseqüência, além de elevar a taxa de mortalidade em índices acima do esperado, também favorecer o processo de infecção por *Armillaria*.

Para estudar a armilariose, a morte e o declínio das árvores têm sido mapeados em várias regiões por longos períodos de tempo com base em trabalhos de campo (VOLLBRECHT e AGESTAM, 1995; VOLLBRECHT e JORGENSEN, 1995)

e também por fotografias aéreas (WILLIANS e LEAPHART, 1978; LUNDQUIST, 1993).

A quantificação do processo de infecção pode ser feita analisando o patógeno e/ou a doença ou ambos. Dados quantitativos devem então ser dimensionados de forma apropriada para que as estratégias de manejo sejam determinadas. Um modelo de previsão de incidência de doença pode subsidiar o planejamento de manejo florestal e facilitar decisões entre diferentes práticas silviculturais. Tal modelo também pode servir para demonstrar quantitativamente uma hipótese sobre a dinâmica de doenças radiculares, comportamento, e impacto, auxiliando pesquisadores na identificação de falhas em dados e ajudando a definir e priorizar as necessidades da pesquisa (LAMOUR e JEGER, 2000).

A análise da dinâmica de doenças, quer seja do ponto de vista temporal ou espacial, pode fornecer subsídios indispensáveis para a quantificação de danos econômicos, os quais permitem determinar os prejuízos, sociais e ambientais. Uma avaliação de progressão e por conseguinte previsão de impactos futuros causados pela doença, é uma ferramenta importante na tomada de decisões na condução da atividade florestal.

A forma de distribuição espacial apresentada pelo patógeno quanto à dispersão, que seja regular, aleatória ou agregada, pode auxiliar na escolha da melhor forma de preparo de solo para implantação florestal, visando redução de perdas causadas pela armilariose. Todavia quando houver ataque, pode também otimizar o processo de controle a ser adotado, tornando-o mais prático, eficiente e com menores custos.

O presente estudo teve como objetivos específicos: estudar os aspectos epidemiológicos relacionados com a temperatura de crescimento de isolados de *Armillaria* sp. em laboratório, a distribuição espacial da doença em focos e, avaliar os impactos econômicos causados pela armilariose em plantios de pínus na região Sul do Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FATORES QUE AFETAM A DISPERSÃO DA ARMILARIOSE

Em florestas temperadas, a dispersão da armilariose por meio de rizomorfos é a principal forma de infecção em espécies florestais (MORRISON, 1976). Em geral, as rizomorfos de *Armillaria* são produzidas mais abundantemente a partir de restos vegetais que foram colonizados anteriormente e a sua distribuição vertical está restrita à camada superficial do solo (LAMOUR e JEGER, 2000). O modelo de dispersão a partir da base nutritiva é normalmente radial (ONO, 1970) e, como resultado da ramificação de rizomorfos individuais, forma-se uma rede (REDFERN, 1973), portanto observa-se que em um sítio infestado pela armilariose, as chances de contato entre as rizomorfos e raízes no solo são muito maiores.

No Japão, ONO (1965) encontrou mais rizomorfos na camada superficial do solo (0-10 cm) que na camada intermediária (10-20 cm) de profundidade. Em concordância, REDFERN (1973) relatou que a maior densidade é encontrada na camada superficial (2,5-20 cm) e raramente abaixo de 30 cm de profundidade. MORRISON (1976) observou que o modelo de distribuição de rizomorfos maduras (escuras) de *A. mellea* variou conforme as condições físicas do solo. Em sítios úmidos, as rizomorfos foram concentradas na camada superficial de 10 cm de solo, enquanto em sítios secos foram encontradas nas camadas mais profundas. Em contraste, o modelo de distribuição de rizomorfos imaturas (vermelhas) foi independente das características físicas do solo.

Outro fator relacionado com a distribuição no solo pode ser a temperatura, RISHBETH (1968) realizou experimento para avaliar a taxa de crescimento do micélio e das rizomorfos em meio de cultura malte-ágar 3 % em diversas temperaturas no intervalo de 5 a 32 °C. O crescimento médio obtido foi de 0,11 mm/dia às temperaturas extremas (5 e 32 °C) e a temperatura ótima verificada foi 25 °C. Rizomorfos de um isolado cresceram 9,8 mm/dia em malte-ágar à 25 °C (temperatura ótima) e, 6,8 mm/dia à 30 °C. Em contraste, o ótimo para as rizomorfos foi 22 °C, em tubos com solo inoculado com cavacos de madeira colonizados, e não se verificou crescimento à 30 °C. Segundo o autor, as altas temperaturas verificadas nos solos de climas tropicais e subtropicais não devem permitir o crescimento de rizomorfos de *A. mellea*.

RISHBETH (1978), em experimento com *Pinus sylvestris*, inoculado artificialmente com *Armillaria* sp., verificou que na temperatura próxima de 20 °C, houve o maior crescimento das rizomorfias, atingindo 7 m de comprimento e 15 g de peso seco ao final de um período de 18 semanas, entretanto, acima de 28 °C o crescimento foi reduzido. O crescimento das rizomorfias foi altamente favorecido quando o fungo foi submetido a temperaturas situadas entre 10 e 26 °C.

Visando relacionar as condições térmicas encontradas no Sul do Brasil, foi realizado um estudo preliminar utilizando um isolado de *Armillaria* sp., coletado em Pirai do Sul/PR. Observou-se que existe uma faixa de temperatura entre 15 e 25 °C, que proporcionou as maiores taxas de crescimento do fungo, entretanto recomendou-se a necessidade de emprego de um maior número de isolados para se conhecer a temperatura ideal (GOMES et al., 2002).

2.2 A DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA DOENÇA

A caracterização de atributos espaciais é comum em Ecologia Geral (GREIG-SMITH, 1983) e Entomologia (TAYLOR, 1984). Os princípios e métodos desse tipo de estudo, na sua maioria, foram gerados por aquelas duas ciências e a Fitopatologia tem procurado se valer desses conhecimentos e aplicá-los, especificamente, no entendimento dos patossistemas.

De forma geral, existem três padrões de arranjo espacial: regular, aleatório e agregado. Como em fitopatologia o primeiro tipo é raro (CAMPBELL e MADDEN, 1990), os dois últimos é que são alvo das análises e podem ser definidos da seguinte maneira: a distribuição aleatória ocorre quando o conhecimento da localização de um indivíduo (entidade somática) não fornece nenhuma informação sobre a localização de qualquer outro indivíduo; ou os valores para cada par de unidades i e j (locais ou áreas) não são correlacionados (MADDEN, 1989). A distribuição agregada ocorre quando a localização de um indivíduo, em um ponto determinado, aumenta a probabilidade de que outros pontos próximos a ele estejam ocupados por outros indivíduos semelhantes; ou os valores para cada par de unidades i e j (locais ou áreas) são correlacionados (MADDEN, 1989).

Existem três classes básicas de métodos de análise de arranjos espaciais (CAMPBELL e MADDEN, 1990):

- i) estudo da seqüência de plantas doentes e sadias na área avaliada;
- ii) análise por meio de *quadrats* (unidade de amostragem, usualmente retângulos ou quadrados) dispostos em malhas, *transects* (faixa ou linha de amostragem na qual os *quadrats* são definidos) ou aleatoriamente ao longo da área experimental (ODUM, 1988);
- iii) análise de medidas de distância.

A primeira dessas classes engloba a Análise de Seqüências Ordinárias (ASO), onde cada conjunto de elementos do mesmo tipo (i.e., plantas sadias ou doentes) é considerado uma seqüência. O número de grupos de plantas doentes é comparado com o número esperado sob a hipótese de aleatoriedade. Quanto mais agregadas as entidades somáticas estiverem, menos grupos (seqüências) serão observados. O uso dessa técnica tem sido amplo (CAMPBELL e MADDEN, 1990), principalmente para testar hipóteses específicas relacionadas ao papel de práticas culturais (DHANVATARI e DIRKS, 1987) ou do vento (GOTTWALD et al., 1993) na disseminação de patógenos. A grande limitação desse método é a unidirecionalidade de análise (CAMPBELL e MADDEN, 1990). No entanto, em culturas plantadas em *látices* (citros ou café, por exemplo), os cálculos podem ser feitos na direção das linhas de plantio ou na perpendicular a elas, ampliando a quantidade de informação obtida.

A segunda classe de métodos de estudo de arranjo espacial (análise por meio de *quadrats* dispostos em malhas, *transects* ou aleatoriamente ao longo da área experimental) possui seis tipos de técnicas: mapas; distribuições discretas; índices de dispersão; variância de quadrados; autocorrelação espacial; ajuste à lei de Taylor.

i) Mapas

O mapeamento (bi ou tridimensional) é uma técnica útil na visualização e discernimento de possíveis relações entre os dados e variáveis, tais como fatores edáficos e fontes de inóculo. Nesse último caso, uma atenção especial é dada àquelas localizadas fora da área avaliada. Em adição, áreas ou linhas isópatas

podem ser construídas, denotando locais de mesmo nível de doença (BERGER e LUKE, 1979; NOE e BARKER, 1985).

ii) Ajuste a distribuições discretas

Parte-se do pressuposto de que a distribuição da frequência dos dados pode indicar se as plantas doentes estariam aleatoriamente arranjadas ou agregadas. O ajuste das informações a distribuições discretas (Poisson, Beta Binomial, Binomial Negativa, etc.) informa apenas se há ou não aleatoriedade, não guardando qualquer informação sobre a posição relativa das unidades amostradas, não podendo também ser utilizado para dados de severidade. Mesmo assim, pode ser aplicado com sucesso se aliado a outras técnicas (MADDEN e HUGHES, 1995). Geralmente, os parâmetros das distribuições, como por exemplo o k da Binomial Negativa (CAMPBELL e MADDEN, 1990) e o θ da Beta Binomial (MADDEN e HUGHES, 1995) são usados como índices de dispersão.

iii) Índices de dispersão

O cálculo de índices de dispersão (relação variância/média, índices de Lloyd, índice de Morisita, etc.) são baseados nas relações entre variância e média do conjunto de dados da área experimental e indicam regularidade (índice < 1), aleatoriedade (índice $= 1$) ou agregação das medidas (índice > 1) (UPTON e FINGLETON, 1985). MADDEN e HUGHES (1995) demonstraram que tais índices, que são baseados nas premissas da distribuição de Poisson (UPTON e FINGLETON, 1985), não poderiam ser usados para dados de incidência como por exemplo, proporção de plantas afetadas em dada área. Segundo aqueles pesquisadores, esse tipo de dado é melhor descrito pela função Binomial e, assim, os índices de dispersão devem ser outros. A utilização de índices de dispersão apropriados para dados de incidência, vem de forma gradual, ocupando espaço na literatura fitopatológica (GOTTWALD et al., 1995; MADDEN et al., 1995). Apesar de muito usados, os índices de dispersão têm a grande limitação, assim como o ajuste a distribuições discretas, de não levarem em conta a posição relativa de cada medida. Ou seja, as mesmas informações arranjadas de formas diversas numa mesma área experimental produziriam os mesmos resultados. Além disso, não podem ser usados para todos os tipos de dados (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

iv) Variância de *quadrats*

Na análise de variância de *quadrats*, esse parâmetro é calculado para os mesmos dados dispostos em *quadrats* múltiplos de 2 (2 x 2, 4 x 4, 8 x 8, etc.) e plotada em função do tamanho dos *quadrats*. O tamanho do aglomerado de entidades doentes é dado pelo pico de variância. No entanto, é um método trabalhoso e com resultados pouco precisos, já que, se o pico for observado para o *quadrat* 8 x 8, significa que o tamanho médio do agrupamento está entre os *quadrats* 4 x 4 e 16 x 16 (UPTON e FINGLETON, 1985), ou seja, entre 16 e 256 plantas.

v) Ajuste à lei de Taylor

Segundo TAYLOR (1961), a propriedade que populações têm de se apresentar em algum grau de agregação é altamente específica. A partir dos dados de distribuição espacial de diversas populações de uma espécie, pode-se relacionar linearmente o logaritmo da variância e o logaritmo da média, assim:

$$\log \text{ var} = \log a + b \cdot \log \text{ média}$$

em que a e b são parâmetros.

Desse modo, TAYLOR (1961) considerou que os parâmetros da equação representam a característica espacial de cada espécie. Mais especificamente sugeriu o uso do parâmetro b como índice de agregação; quando $b > 1$ há agregação (tanto maior, quanto maior for o valor de b), quando $b = 1$ há aleatoriedade e quando $b < 1$, há regularidade. Ainda assim, segundo MADDEN e HUGHES (1995), a interpretação de b não deve ser separada da feita para o parâmetro a . Esses mesmos autores demonstraram ainda a inadequação da lei de Taylor para dados de incidência e propuseram uma modificação, atendendo à previsão de Taylor (1961) de que dados binários provavelmente necessitariam de tratamento estatístico especial (HUGHES e MADDEN, 1992).

vi) Análise de correlação espacial (ACE)

Segundo LEGRENDE (1993), a autocorrelação espacial é uma característica geral de variáveis ecológicas e pode ser definida como a propriedade que os valores aleatórios têm de, tomados dois a dois, em sítios separados por uma certa distância, serem similares (autocorrelação positiva) ou menos similares (autocorrelação

negativa) que o esperado para pares de observações associadas ao acaso. A AACE é uma técnica potente, na medida em que pode trabalhar com dados discretos do tipo “contagem” ou com dados contínuos do tipo “área foliar afetada”. MADDEN e HUGHES (1995) entretanto alertam que, para trabalhar com incidência, os dados precisam ser convenientemente transformados. Os resultados da AACE são expressos em intervalos de espaço ($ie \geq 1$) em que os valores dos dados mantêm relação uns com os outros, ou seja, até qual intervalo de espaço ie uma certa medida (número de lesões, por exemplo) numa posição e tem relação com as medidas nas posições $e + ie$ em dadas direções (GOTTWALD et al., 1992). Raciocínio semelhante é usado na autocorrelação espaço-tempo (REYNOLDS et al., 1988). Ao contrário das técnicas anteriores, e por considerar a posição das medidas, a AACE obtém informação não só do arranjo espacial dos dados, mas também da relação entre as medidas. Pode-se, assim, identificar não apenas a agregação, mas em quais locais da área experimental ocorreu e direção preferencial, entre outros atributos. Outra técnica baseada na correlação espacial teve sua origem em prospeções geológicas (TRANGMAR et al., 1985) e é conhecida como geoestatística, já tendo sido aplicada em Fitopatologia (CHELLEMI et al., 1988; CHELLEMI et al., 1991).

As análises através das medidas de distância entre plantas doentes formam a terceira classe de métodos de estudo de arranjo espacial. A maioria dessas análises considera que os indivíduos possam ocupar qualquer posição no *continuum* de uma área, o que não é verdade para a maioria das culturas agrônômicas. Entretanto, (CAMPBELL e MADDEN, 1990) afirmam que as investigações mais extensas devem ser feitas antes de qualquer recomendação contra ou a favor de tais métodos.

Na citricultura, dois desses métodos já foram utilizados com sucesso por LLANOS et al. (1981), ao estudar a distribuição espacial de plantas afetadas pelo declínio, bem como por MARCUS et al. (1984), com relação à tristeza. De todos eles, o mais usado tem sido o índice de Clark e Evans, aplicado por esses últimos autores.

Além dessas três classes reconhecidas, recentemente foi proposta uma metodologia (NELSON, 1996) para o estudo de distribuição espacial de plantas doentes. Por essa nova técnica, o caráter espacial de uma epidemia pode ser

descrito a partir dos caracteres dos focos de plantas afetadas. Assim, é calculado o número de focos, seu tamanho médio, máximo, forma aproximada e, também seu grau de compactação, Segundo NELSON (1996), as variáveis obtidas podem ser usadas em conjunto com outras técnicas, para melhor entender o patossistema. Embora seja um método simples, de fácil uso e que fornece um número razoável de descritores para a epidemia, a sua viabilidade ainda não foi testada num grande número de patossistemas.

2.3 ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS COM A ARMILARIOSE

Visando avaliar os progressos temporal e a distribuição espacial da mortalidade causada pela armilariose, BRUHN et al. (1996), estudou durante o período entre 1982 e 1989, 22 pomares de *Picea mariana* para produção de sementes, plantadas em áreas anteriormente ocupadas por *Pinus banksiana*. A mortalidade causada por *A. ostoyae* foi observada na maioria dos pomares após três anos do plantio. Dentre os pomares atacados, quatro foram avaliados e, o estudo revelou que a mortalidade acumulativa causada pela armilariose estaria situada no intervalo entre 9-41% e 25-97% aos 20 e 50 anos de idade, respectivamente. A distribuição da doença ocorreu de forma agregada em todos os pomares atacados pela armilariose, portanto, as árvores adjacentes às infectadas tiveram maior probabilidade de ataque pela doença.

Para estudar a forma de dispersão da doença, SWIFT (1972) instalou 4 parcelas de 10 x 10 plantas de *P. elliotii*, ao redor de uma ou duas plantas mortas por *A. mellea* e as avaliou semestralmente por dois anos. Foi registrado ao final do período um incremento em mortalidade que variou entre 17 e 29 plantas, sendo que os maiores números ocorreram nos focos avaliados que partiram de duas plantas inicialmente. Em todos os focos a dispersão ocorreu de forma agregada, portanto se concentrando nas plantas adjacentes.

2.4 IMPACTOS ECONÔMICOS CAUSADOS PELA ARMILARIOSE

Apesar dos primeiros sinais da armilariose serem evidenciados a partir do primeiro ano, as perdas podem não se restringir apenas à fase jovem dos plantios,

isto é, inferior ao quinto ano de idade, e se estender durante toda a rotação, com perdas significativas na produção final dos povoamentos.

MACKENZIE (1987) iniciou uma avaliação em um povoamento recém-desbastado, ao décimo ano de idade, de *Pinus radiata* na Nova Zelândia e, posteriormente ao 19º ano e estimou os danos para o 28º ano. Foi verificado que a perda do potencial volumétrico atribuído à infecção por *Armillaria* spp., situou-se na faixa entre 5,5 e 11 %, que poderia proporcionar um decréscimo entre 26 e 61 m³/ha na produção final.

MASUKA (1989) avaliou um pomar clonal de sementes de *P. oocarpa* em Zimbabwe, África e, encontrou mortalidade de 3,5 % causada por armilarirose, apenas durante uma estação de crescimento.

Levantamento preliminar de danos em plantios de *P. elliotii* var. *elliotii*, no Estado do Paraná, em duas faixas de idade de um a dois e três a cinco anos, apresentou incidência de doença que variou entre 0,4 e 2,4 % na primeira e, entre 3,2 e 8,6 % na segunda classe etária, que correspondeu a uma taxa de progressão anual entre 0,7 e 1,1 %. Estes índices obtidos podem representar perdas estimadas entre 70 e 113 m³/ha ao final de 20 anos de rotação (GOMES e AUER, 2003).

Os impactos econômicos previstos em plantios atacados pela armilarirose revelaram que pode haver grande prejuízo ao setor florestal do sul do Brasil entre, R\$ 9,6 e 28,8 milhões anualmente, ao valor de R\$ 50,60/m³ de toras de *Pinus*, supondo-se que 10 e 30%, respectivamente das áreas plantadas estejam sendo atacadas pela doença (RODIGHERI et al., 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA ÓTIMA DE CRESCIMENTO

Para este estudo, foram utilizados três isolados obtidos de árvores doentes de *P. elliotii* var. *elliotii*, denominados como A-1 A-2 e A-3. Foram coletadas as coordenadas geográficas e altitude local de origem com um aparelho portátil com o

sistema NAVSTAR – GPS (Navigation System with Time and Ranging-Global Positioning System). As coordenadas UTM (Projeção Universal Transversal de Mercator) registradas foram transformadas em coordenadas de latitude e longitude (TABELA 6).

Os dados climáticos, temperaturas máxima (média), temperatura mínima (média) e precipitação média mensal, foram obtidos da estação meteorológica mais próxima, em torno de 25 km, do local de origem do isolado (AGRITEMPO, 2005). Para a origem dos isolados A-1 e A-2 foram utilizados os dados da estação meteorológica de Castro/PR do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) e para A-3, da estação meteorológica de Rio Negrinho/SC da EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.). Na região de Piraí do Sul, as temperaturas médias variaram entre 4,0 (mínima) e 29,5 °C (máxima) e a precipitação média mensal foi de 135,5 mm. Na região de Rio Negrinho, as temperaturas variaram entre 7,0 (mínima) e 29,2 °C (máxima) e a precipitação média mensal foi de 121,2 mm.

Foi utilizada a metodologia de preparo de meio de cultura, inoculação e avaliação de biomassa preconizada por GOMES et al. (2002), que consistiu no preparo de um caldo batata-dextrose (BD: infusão de 200 g de batata; 20 g de dextrose; água destilada q.s.p. 1000 ml). Uma alíquota de 50 ml do caldo foi colocada em frascos de vidro com tampa plástica com capacidade de 500 ml, os quais foram esterilizados em autoclave por 1 h, a 120 °C e 1 atm. A inoculação dos frascos foi feita transferindo-se 2 discos de micélio-ágar, de 5 mm de diâmetro (FIGURA 6).

Os frascos foram incubados em estufas BOD, no escuro, às temperaturas de 16, 18, 20, 22, 24 e 26 °C. Após 30 dias de incubação, a produção de biomassa foi avaliada, filtrando-se o caldo contendo rizomorfos e micélio em papel filtro Whatman n.1, secando-se o filtrado em estufa à temperatura de 80 °C por 16 horas. Posteriormente avaliou-se a biomassa produzida em cada temperatura e o peso de matéria seca (mg) foi transformado em crescimento diário (mg/dia).

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 12 repetições por temperatura, porém alguns frascos foram contaminados com bactérias, os quais foram descartados. Os valores foram submetidos à análise de variância e de

regressão por meio de polinômios ortogonais, utilizando-se o aplicativo SAS – *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc.).



FONTE: Celso Garcia Auer (2004)

FIGURA 6 - ASPECTO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Armillaria* sp. EM CALDO NUTRITIVO.

TABELA 6 - DADOS DE ORIGEM DOS ISOLADOS A-1, A-2 E A-3

Isolado	Município/Estado	Hospedeiro	Altitude (m)	Latitude (S)	Longitude (W)
A-1	Piraí do Sul/PR	<i>P. elliotii</i>	992	24°34'	49°56'
A-2	Piraí do Sul/PR	<i>P. elliotii</i>	992	24°34'	49°56'
A-3	Rio Negro/SC	<i>P. elliotii</i>	797	26°31'	49°43'

3.2 DETERMINAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA ARMILARIOSE NOS FOCOS

3.2.1 Seleção das Áreas para Avaliação

As áreas de estudo foram selecionadas de acordo com os seguintes critérios:

- i) Idade variando de 1 a 5 anos.

- ii) Plantios representativos de primeira e segunda rotação de *P. elliottii* var. *elliottii* e *P. taeda*.
- iii) Presença da armilariose a partir do início da rotação, com focos ativos.
- iv) Cobertura vegetal anterior ao plantio de pinus.
- vi) Operação utilizada para o preparo de solo.

3.2.2 Avaliação da Doença

Nos povoamentos acima descritos (sítios) foram instaladas parcelas distribuídas ao acaso, plantadas com espaçamento entre plantas de 3 x 2 m, com aproximadamente 3.000 m² de área, contendo 500 plantas cada. Foram tomadas as coordenadas geográficas UTM (Projeção Universal Transversal de Mercator) de cada parcela, com um aparelho que utiliza o sistema NAVSTAR - GPS (Navigation System with Time and Ranging-Global Positioning System) e observadas as demais informações a respeito das condições locais (TABELA 7).

Foram também obtidos os dados climáticos, temperaturas máxima (média), temperatura mínima (média) e precipitação média mensal, da estação meteorológica mais próxima do sítio estudado, em torno de 25 km (AGRITEMPO, 2005). Para os sítios CS1 e CS2 foram utilizados os dados da Estação Meteorológica do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) de Castro/PR, Sítio UV, da Estação do Instituto Tecnológico SIMEPAR em União da Vitória/PR e sítio CL, da Estação da EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.) em Matos Costa/SC.

Inicialmente foram mapeadas todas as plantas dentro da parcela, lançadas em planilha Excel, utilizando os seguintes códigos: plantas infectadas e mortas, por armilariose (1), falhas (-) e plantas saudas (0). As avaliações foram repetidas trimestralmente, durante um período aproximado de dois anos e, os dados foram armazenados para processamento após o final da tomada de dados, calculando-se o índice de dispersão ($I\beta$) médio da doença.

Dentro de cada parcela instalada coletou-se amostras de solo em 10 pontos para compor as amostras compostas, para análise química de fertilidade e determinação dos micronutrientes, assim como a determinação das características

físicas. As análises de solo foram feitas no Laboratório de Química, Fertilidade, Nutrição e Biogeoquímica do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (TABELAS 8 e 9) e foram interpretados conforme Recomendações de adubação e calagem da Comissão de Fertilidade do Solo – RS/SC para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC, 1994). As interpretações podem ser melhor analisadas nos ANEXOS 1 e 2.

TABELA 7 - LOCALIZAÇÃO, ESPÉCIE, ANO DE PLANTIO, ROTAÇÃO, COBERTURA VEGETAL ANTERIOR, PREPARO DE SOLO E COORDENADAS GEOGRÁFICAS DAS PARCELAS PERMANENTES

Sítio/ Parcela	Município	Espécie	Ano de Plantio	Rotação	Cobertura anterior	Preparo de solo	Latitude (S)	Longitude (W)
CS1/7	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1ª	Pastagem	Destoca/enm.	24º58'	49º47'
CS1/8	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1ª	Pastagem	Destoca/enleiram.	24º58'	49º47'
CS1/9	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1ª	Pastagem	Destoca/enleiram.	24º59'	49º47'
CS1/11	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1ª	Pastagem	Destoca/enleiram.	24º58'	49º47'
CS2/1	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2ª	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	Queima	24º57'	49º49'
CS2/2	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2ª	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	Queima	24º57'	49º49'
CS2/3	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2ª	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	Queima	24º57'	49º49'
CS2/4	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2ª	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	Queima	24º57'	49º49'
UV/4	U. Vitória/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1ª	Capoeira alta	Roçada/queima	26º05'	51º01'
UV/9	U. Vitória/PR	<i>P. taeda</i>	2001	1ª	Capoeira alta	Roç./enleiramento	26º04'	51º00'
UV/10	U. Vitória/PR	<i>P. taeda</i>	2001	1ª	Capoeira alta	Roç./enleiramento	26º04'	51º00'
UV/12	U. Vitória/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1ª	Capoeira alta	Roçada/queima	26º05'	51º01'
CL/13	Calmon/SC	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2000	1ª	Capoeira alta	Roçada/queima	26º32'	51º03'
CL/14	Calmon/SC	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2000	1ª	Capoeira alta	Roçada/queima	26º32'	51º03'
CL/15	Calmon/SC	<i>P. taeda</i>	2001	1ª	Capoeira alta	Roçada/queima	26º32'	51º03'
CL/16	Calmon/SC	<i>P. taeda</i>	2001	1ª	Capoeira alta	Roçada/queima	26º32'	51º02'

TABELA 8 - CARACTERÍSTICAS DOS SOLOS (0 - 20 CM) DAS PARCELAS PERMANENTES - QUÍMICA E FERTILIDADE PARA MACRONUTRIENTES, C E AI E GRANULOMETRIA

Sitio/ Parc.	pH		Al ⁺³	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K	P	M.O.	T	V	Areia	Silte	Argila
	CaCl ₂	H ₂ O											
CS 1/7	4,00	5,60	1,5	0,85	0,45	13,0	2,8	5,05	8,13	17,59	74	16	10
CS 1/8	3,80	5,30	2,0	0,60	0,37	14,0	2,8	4,22	9,51	11,67	76	14	10
CS 1/9	3,80	5,20	2,7	0,63	0,53	11,0	2,8	5,67	10,27	12,37	74	16	10
CS 1/11	3,60	4,90	3,5	0,28	0,25	10,0	3,5	5,15	11,93	5,28	72	12	16
CS 2/1	3,70	5,20	3,0	0,13	0,16	7,0	2,8	3,79	9,36	3,85	70	20	10
CS 2/2	3,70	4,70	4,0	0,25	0,20	9,0	3,9	6,93	13,64	3,96	72	16	12
CS 2/3	3,60	4,90	3,8	0,33	0,30	14,0	4,2	4,33	12,07	6,38	24	36	40
CS 2/4	3,50	4,60	4,5	0,20	0,20	9,0	3,8	7,14	14,59	3,36	74	16	10
UV/4	3,80	5,10	3,0	0,83	0,57	32,0	4,4	5,47	12,22	14,08	14	44	42
UV/9	3,60	4,30	5,0	0,38	0,49	24,0	3,9	5,88	18,71	5,93	38	34	28
UV/10	3,60	4,70	4,1	0,58	0,49	30,0	3,9	4,84	14,47	9,47	38	34	28
UV/12	3,60	4,80	2,6	0,50	0,45	20,0	3,2	5,98	13,25	8,68	32	32	36
CL/13	3,40	4,50	3,0	0,30	0,29	21,0	4,6	6,50	16,00	5,00	36	40	24
CL/14	3,70	4,50	3,8	0,45	0,50	45,0	4,6	6,50	16,60	8,43	28	26	46
CL/15	3,60	4,50	4,5	0,28	0,30	20,0	3,2	5,98	15,98	4,88	14	40	46
CL/16	3,80	4,80	4,0	0,60	0,49	31,0	2,8	6,29	13,50	10,37	14	40	46

Obs.: Para classificação dos valores ver anexo 1

TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS DOS SOLOS (0 - 20 CM) DAS PARCELAS PERMANENTES – MICRONUTRIENTES

Sítio/ Parcela	Fe	Mn	Cu	Zn
	mg.L ⁻¹			
CS 1/7	3,5	20,0	0,3	0,7
CS 1/8	7,0	13,5	0,3	0,6
CS 1/9	18,0	2,9	0,2	0,5
CS 1/11	24,3	4,2	0,3	0,7
CS 2/1	29,1	1,2	0,3	0,2
CS 2/2	33,1	2,4	0,3	0,5
CS 2/3	11,4	22,2	0,2	0,8
CS 2/4	40,4	1,2	0,2	0,3
UV/4	1,4	35,3	0,4	0,7
UV/9	9,3	48,1	0,4	0,8
UV/10	1,4	62,0	0,3	0,8
UV/12	14,6	2,9	0,2	0,7
CL/13	41,7	8,7	0,4	0,7
CL/14	9,8	30,1	0,3	0,7
CL/15	5,5	40,8	0,3	0,6
CL/16	5,5	30,8	0,3	0,9

Obs.: Para classificação dos valores ver anexo 2

3.2.3 Divisão das Áreas e Cálculo de p

Cada parcela mapeada foi dividida em *quadrats* de 5 x 5 (25 plantas), totalizando 20 *quadrats*. Para cada *quadrat* foi determinada a proporção de plantas atacadas em cada avaliação e calculada a incidência da doença na parcela. Essa variável foi representada por p e pode ser definida como uma estimativa da probabilidade de uma planta estar doente (MADDEN e HUGHES, 1995). Foi obtida por meio da equação:

$$p = \Sigma X_i / nN$$

onde ΣX_i é o somatório do número de plantas doentes em cada *quadrat* i , n é o número de plantas em cada *quadrat* e N é o número total de *quadrats* em cada área. Esses dados foram calculados com o uso do programa Quadratizer (T.R. GOTTWALD, USDA) e formaram a base para o cálculo do índice de dispersão e incidência da doença nas parcelas instaladas. Esta análise foi desenvolvida com o apoio da Dra. Lilian Amorim, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Nematologia da ESALQ-USP.

3.2.4 Cálculo de Variâncias

Para cada avaliação em cada área e para o conjunto de *quadrats* amostrados foram calculadas a variância observada (V_{obs}) e a variância binomial (V_{bin}). Sob a hipótese de aleatoriedade, e para incidência em proporção de plantas doentes, foram utilizadas as seguintes equações (HUGHES e MADDEN, 1992; HUGHES et al., 1996):

$$V_{obs} = \sum (X_i / np)^2 / n^2(N-1)$$

$$V_{bin} = p(1 - p) / n$$

3.2.5 Índice de Dispersão ($I\beta$) e Incidência

O índice de dispersão foi calculado para todas as avaliações através da equação (GOTTWALD et al., 1996):

$$I\beta = V_{obs} / V_{bin}$$

A média de $I\beta$ obtida por parcela foi comparada às do mesmo sítio e, as médias de cada sítio foram comparadas entre si, por meio do teste de Tukey (Tukey's Studentized Range – HSD) ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando o aplicativo SAS – *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc.).

Para comparação das médias de $I\beta$ pelo teste de Tukey, a diferença mínima significativa Δ (delta) é dada pela fórmula:

$$\Delta = q \sqrt{QMres/\sqrt{r}}$$

onde r = número de repetições (avaliações) e q é a amplitude studentizada para o número de tratamentos e GL (graus de liberdade do resíduo). Quando a diferença entre as médias foi $> \Delta$, houve diferença entre parcelas e/ou sítios e, quando foi $< \Delta$, foram iguais entre si (GOMES e GARCIA, 2002).

A hipótese nula foi a de que o padrão observado era aleatório e a hipótese alternativa a de que era agregado. Valores de $I\beta$ que não diferiam estatisticamente de 1,0 foram considerados como indicativo de aleatoriedade dos dados. De forma complementar, valores estatisticamente superiores a 1,0 foram tomados como indicativos de agregação.

Os resultados da distribuição espacial da doença foram avaliados com base na equação de GOTTWALD et al. (1996), por meio do índice de dispersão médio

durante o período avaliado (I β), nas parcelas e sítios. Os percentuais de incidência considerados foram os obtidos na última avaliação.

Os dados de incidência, obtidos em cada avaliação foram plotados em gráficos para estudar o comportamento da doença durante o período avaliado, expressando a proporção de plantas doentes .

O sítio CS1, localizado em Castro/PR, com temperaturas médias variando entre 4,0 (mínima) e 29,5 °C (máxima), precipitação média mensal de 135,5 mm, foi representado pelas parcelas 7, 8, 9 e 11 (*P. elliottii* var. *elliottii*) e avaliado durante o período que compreendeu entre outubro/02 e abril/04.

O sítio CS2, também localizado em Castro/PR, foi representado pelas parcelas 1, 2, 3 e 4 (*P. elliottii* var. *elliottii*) e avaliado durante o período que compreendeu entre julho/02 e abril/04.

O sítio UV localizado em União da Vitória/PR, com temperaturas médias variando entre 6,5 (mínima) e 30,1 °C (máxima), precipitação média mensal de 94,3 mm, foi representado pelas parcelas 9 e 10 (*P. taeda*) que foram avaliadas durante o período que compreendeu entre maio/02 e maio/04. A parcela 4 foi avaliada entre agosto/02 e maio/04 e a parcela 12 entre novembro/02 e maio/04, ambas com *P. elliottii* var. *elliottii*. Neste sítio houve necessidade de instalação de parcelas em épocas diferentes para substituir algumas que foram instaladas em talhões pertencentes a classes etárias mais avançadas, em torno de cinco a sete anos, que não seriam representativas para se alcançar os objetivos propostos.

O sítio CL, localizado em Calmon/SC, com temperaturas médias variando entre 5,4 (mínima) e 26,6 °C (máxima), precipitação média mensal de 111,2 mm, foi representado pelas as parcelas 13 e 14 (*P. elliottii* var. *elliottii*), 15 e 16 (*P. taeda*) que foram avaliadas durante o período que compreendeu entre novembro/02 e maio/04.

3.3 AVALIAÇÃO DE IMPACTOS ECONÔMICOS CAUSADOS PELA ARMILARIOSE

3.3.1 Coleta de Dados

As informações sobre a armilariose foram obtidas através de levantamentos realizados em plantios de *P. elliottii* var. *elliottii* e *P. taeda* localizados nos Estados do Paraná e Santa Catarina, no período de fevereiro/02 até julho/03.

Os levantamentos foram realizados com auxílio de um formulário previamente estruturado, buscando informações como: área com pínus, espaçamento, área e idade dos talhões avaliados e incidência de armilariose. Outras informações obtidas foram: produtividade, rotação média, preço médio recebido por classe de diâmetro, idades de desbastes, destino da madeira e demanda de mão-de-obra (implantação, desramas, desbastes e corte final) por hectare na rotação da cultura.

Nos plantios foram instaladas parcelas distribuídas ao acaso, com aproximadamente 3.000 m² de área, plantadas com espaçamento entre plantas de 3 x 2 m, contendo 500 plantas cada. Foram mapeadas todas as plantas dentro da amostra, para visualizar os focos e, localizar as falhas, plantas mortas por armilariose, plantas amareladas com presença de resinose e plantas saudáveis. Para determinar a percentagem de incidência, somou-se as plantas mortas e amareladas, pela doença. Os critérios utilizados foram:

- i) Período de acompanhamento da doença com avaliações trimestrais: 18 meses;
- ii) Número de talhões avaliados: 14;
- iii) Área total avaliada (amostrada): 227,8 ha;
- iv) Idade dos plantios das parcelas acompanhadas e avaliadas: de um a cinco anos;
- v) Índice médio de incidência (mortalidade) de armilariose: 5,0 % e, aumento anual de 1 %.
- vi) Ciclo médio de rotação: 21 anos;
- vii) Produtividade média anual sem a ocorrência da doença: 35 m³/ha;
- viii) Desbastes e corte final: aos 8 anos (35% das árvores), aos 12 anos (30% das árvores); aos 16 anos (20% das árvores), no corte final aos 21 anos (15% das árvores);
- ix) Preço médio recebido pela madeira em pé em novembro/04: R\$ 88,60/m³, equivalente a 34 % do salário mínimo vigente (R\$ 260,00).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TEMPERATURA ÓTIMA DE ISOLADOS DE *Armillaria* sp.

Analisando os resultados de crescimento, verificou-se que os isolados A-1 e A-2 tiveram a maior produção de biomassa e o maior ponto de máxima (TABELA 10). Estes isolados apresentaram produção de biomassa similar entre si dentro do intervalo de confiança, nas faixas de temperatura entre 16 e 24 °C. O ponto de máximo crescimento foi diferente para todos os isolados (TABELA 10). Entretanto, a temperatura ótima encontrada foi dentro de uma faixa encontrada para *A. mellea*, abaixo de 25 °C, em meio de cultura e também próximos aos 22 °C, este, considerado ótimo para o crescimento de rizomorfos em solo encontrado por RISHBETH (1978). Também os pontos de máximo encontrados neste estudo estão dentro da faixa de crescimento verificada por GOMES et al. (2002).

TABELA 10 - BIOMASSA SECA DIÁRIA PRODUZIDA POR ISOLADOS DE *Armillaria* sp. SOB DIFERENTES TEMPERATURAS

Temperatura (°C)	Crescimento vegetativo (mg/dia)		
	A-1	A-2	A-3
16	13,66±0,74 ¹	12,73±0,72	8,35±0,40
18	13,95±0,55	13,01±0,81	8,52±0,50
20	14,86±1,33	13,37±0,87	10,53±0,64
22	22,59±0,59	18,10±1,44	11,78±0,48
24	18,61±1,07	16,90±1,34	8,34±0,22
26	9,61±0,50	12,88±0,72	6,17±0,10
Média	15,72±0,39	14,28±0,40	9,42±0,23
Regressão Linear	< 0,0001	0,0043	0,0749
Regressão Quadrática	< 0,0001	0,0030	0,0415
Regressão Cúbica	< 0,0001	0,0022	0,0221
Ponto de Máximo (°C)	22,77	23,19	21,79

¹Cada valor é média mais desvio padrão, de um número de repetições que variou de 7 a 12 frascos, devido ao descarte dos contaminados.

O modelo matemático que melhor se aproximou para ajustar o crescimento dos isolados às diferentes temperaturas foi a regressão cúbica, pela qual foi possível determinar a temperatura de máximo crescimento para cada isolado: 23,19 (A-2), 22,77 (A-1) e 21,79 (A-3).

Analisando-se os pontos de máximo crescimento (TABELA 10), sugere-se que a temperatura para produção de inóculo e estudos fisiológicos com os isolados brasileiros de *Armillaria* sp. sejam feitos entre 21 e 23 °C, possivelmente em 22 °C. Nesta temperatura, todos os isolados se desenvolveram muito bem e é similar ao

encontrado por RISHBETH (1978) no estudo do efeito da temperatura sobre a produção de rizomorfos de *A. mellea*.

Outro aspecto a ser levantado seria a origem dos isolados, onde as características climáticas diferentes estariam revelando diferenças nas preferências térmicas para o desenvolvimento. A exemplo do estudo feito por RISHBETH (1968), este tipo de pesquisa precisa de maior número de isolados para cobrir as diferenças geográficas.

4.2 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA ARMILARIOSE NOS FOCOS

Como a identificação da(s) espécie(s) de *Armillaria*, não foi concluída até agora, então foi tomada como referência *A. ostoyae*, pois conforme a literatura a forma de expansão da doença segue um modelo similar entre a espécie estudada por BRUHN et al., 1996, e *A. mellea* (SWIFT, 1972; SHAW, 1980) e, provavelmente para as demais espécies do gênero.

Os índices de dispersão médios calculados por sítio e os resultados da análise estatística, obtidos, estão contidos nas TABELAS 11, 12, 13 e 14, referentes aos sítios CS1, CS2, UV e CL, respectivamente. Nas FIGURAS 7, 8, 9 e 10 pode ser visualizada a evolução da doença nas parcelas ao longo do tempo, referentes aos sítios CS1, CS2, UV e CL, respectivamente.

4.2.1 Sítio Castro – 1ª rotação (CS1)

Observou-se que o percentual de incidência variou entre 1,348 %, na parcela 9 e 3,125 % na parcela 8 (FIGURA 7). A menor incidência correspondeu à maior agregação verificada na parcela 9 ($I\beta = 2,343$), que a diferiu estatisticamente das demais ($P \leq 0,05$) (TABELA 11). Todavia, isto pode ser atribuído à maior concentração do inóculo proporcionado pela destoca e posterior enleiramento, concentrando-se os restos vegetais em determinados pontos dentro da parcela, onde formaram-se focos da doença. Estes se expandiram, aumentando a incidência, porém o índice de dispersão decresceu, mantendo a distribuição espacial ainda de forma altamente agregada.

As parcelas 7 e 8 que no início do período apresentaram índices de dispersão < 1 , indicando regularidade, e posteriormente aumentaram os valores, foram

instaladas em talhões que foram implantados em áreas destocadas. Essa operação havia sido realizada há algum tempo, depois transformadas em pastagem artificial, por mais ou menos cinco anos, sem se observar os resíduos da destoca. Contudo, a parcela 7 ($I\beta = 0,911$) manteve seu índice de dispersão estatisticamente igual à parcela 8 ($I\beta = 1,231$), que caracterizaram a distribuição espacial também de forma agregada. Na parcela 11, inicialmente, a distribuição foi mais agregada, decrescendo durante o período avaliado, entretanto o índice médio ainda caracterizou a agregação da doença ($I\beta = 1,279$). A dispersão pode ter ocorrido de duas formas. Na primeira, os focos foram se expandindo, avançando em direção aos *quadrats* vizinhos, que aumentando a variância binomial, diminuíram o índice de dispersão ($I\beta$), portanto menos agregado. Outra situação seria que novos focos em outros *quadrats* surgiram, diminuindo a variância binomial, portanto, aumentando $I\beta$, caracterizando maior agregação.

Com relação à incidência no decorrer do período avaliado, houve progressão durante a primavera e início do verão, estabilizando-se nas outras estações do ano (FIGURA 7).

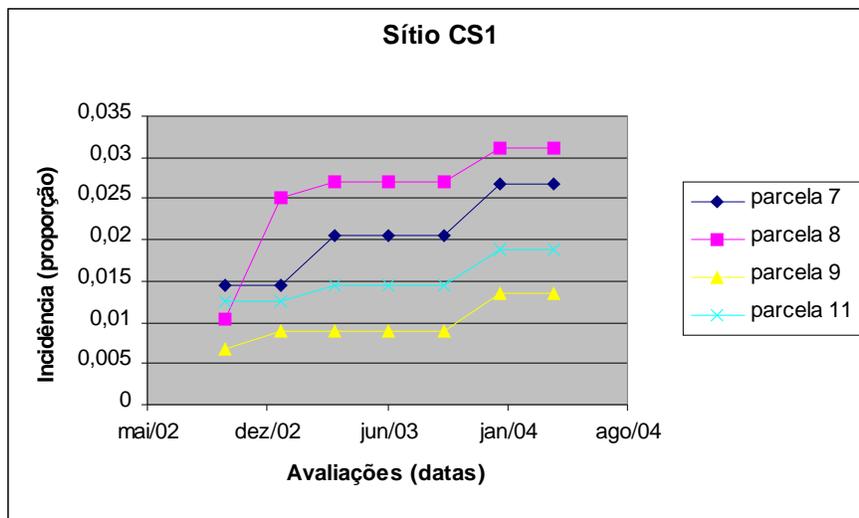
TABELA 11 - ÍNDICES DE DISPERSÃO MÉDIO DA ARMILARIOSE DO SÍTIO CS1.

Sítio	Parcela	Média ¹
CS1	9	2,343a
CS1	11	1,279b
CS1	8	1,231b
CS1	7	0,911b

¹Cada valor é a média de sete avaliações.

Valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

FIGURA 7 - INCIDÊNCIA DE ÁRVORES DOENTES NO SÍTIO CS1, ENTRE 2002 e 2004.



4.2.2 Sítio Castro – 2ª rotação (CS2)

O menor índice médio de dispersão encontrado foi observado na parcela 4 ($I\beta = 0,911$), caracterizando portanto dispersão regular, tendendo à aleatoriedade (TABELA 12). O maior índice médio de dispersão foi observado na parcela 3 ($I\beta = 1,697$), altamente agregado, mas todas as parcelas diferiram estatisticamente entre si. Os $I\beta$ nas parcelas 1 ($I\beta = 1,382$), 2 ($I\beta = 1,18$) e 3 ($I\beta = 1,697$) se comportaram de forma crescente, considerando-se a primeira e última avaliação, mostrando que com o aumento da incidência houve também maior agregação. Contudo, tratam-se de plantios que começaram a ser avaliados com quatro anos, com focos apresentando progressão que, provavelmente, iniciaram no segundo ano e com o decorrer do tempo, foram se expandindo, não alterando de forma tão pronunciada quando comparada aos plantios mais jovens. Apenas a parcela 4 não mostrou este comportamento ($I\beta = 0,911$), caracterizando uma distribuição regular tendendo à aleatoriedade, mas também a incidência (4,57 %), situou-se abaixo da média, em relação às demais. Alguns fatores podem ter contribuído para tal, entre eles, menor pressão do inóculo, maior vigor das árvores, tornando-as mais tolerantes ou resistentes ao ataque de *Armillaria*.

O sítio foi implantado em regime de segunda rotação, entretanto, por falta de informações não foi possível saber se na rotação anterior houve a ocorrência de

armilarirose. Apesar da recomendação da destoca como medida de controle para a armilarirose (FERREIRA, 1989), esta medida às vezes é operacionalmente impraticável e, apenas o material superficial pode ser eliminado nas operações de pré-plantio.

Considerando-se que o preparo de solo utilizado, foi feito apenas por meio de queima, a fonte de inóculo remanescente composta por restos vegetais da primeira rotação, (tocos, galhos e raízes de *Pinus*), permaneceu dispersa de forma mais ou menos homogênea. O ataque normalmente inicia-se após o primeiro ano em algumas plantas e, estas plantas mortas acabam servindo como fonte de dispersão da doença, aumentando a agregação e também a incidência.

O maior percentual de incidência da doença foi encontrado na parcela 2 (10,44 %) (FIGURA 8). Esta parcela foi instalada em local de solo aparentemente raso e, talvez este fator possa explicar a alta taxa de incidência. Entretanto, o índice de dispersão ($I\beta = 1,180$), caracterizou-se em níveis próximos à aleatoriedade tendendo a uma baixa agregação. Talvez a condição local do solo possa explicar esse comportamento em detrimento da distribuição inicial do inóculo.

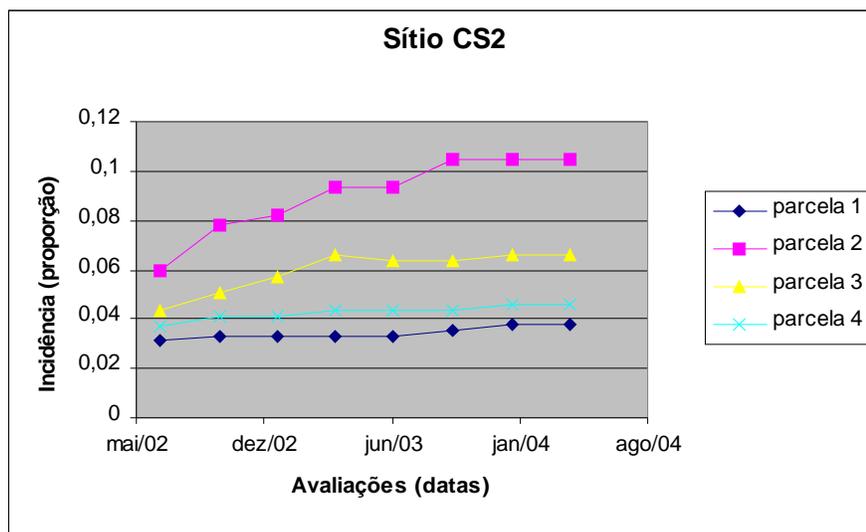
TABELA 12 - ÍNDICES DE DISPERSÃO MÉDIO DA ARMILARIOSE DO SÍTIO CS2.

Sítio	Parcela	Média ¹
CS2	3	1,697a
CS2	1	1,383b
CS2	2	1,180c
CS2	4	0,911d

¹Cada valor é a média de oito avaliações.

Valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

FIGURA 8 - INCIDÊNCIA DE ÁRVORES DOENTES NO SÍTIO CS2, ENTRE 2002 e 2004.



4.2.3 Sítio União da Vitória – 1ª rotação (UV)

Os resultados da TABELA 13, expressaram a comparação e diferença das médias dos índices de dispersão entre as parcelas, que foram assim apresentados devido ao diferente número de avaliações realizadas neste sítio.

Os índices de dispersão calculados revelaram que a doença ocorreu em todas as parcelas de forma agregada conforme observado por BRUHN et al. (1996) e (SWIFT, 1972). Estatisticamente, a parcela 10 ($I\beta = 2,654$) diferiu das demais, notadamente da parcela 9 ($I\beta = 2,023$), que não era esperado pois, ambas foram instaladas em um mesmo talhão, sujeito ao mesmo preparo de solo, roçada seguida de enleiramento. Embora este último possa favorecer a agregação, devido ao acúmulo de restos vegetais e como consequência a concentração do inóculo, outros fatores devem ser considerados, entre eles, a cobertura vegetal anterior do talhão (capoeira alta) e a distribuição do inóculo que normalmente não é uniforme em condições naturais. Acrescentando-se ainda que o enleiramento pode ter sido realizado de uma forma desordenada e, conseqüentemente, influenciado a distribuição espacial da doença. A parcela 9 foi igual às parcelas 4 ($I\beta = 1,769$) e 12 ($I\beta = 2,115$), apesar daquela ter sido instalada em talhões diferentes, com diferentes preparos de solo (TABELA 7) e também com espécies diferentes. Possivelmente, os

restos vegetais doentes que permaneceram no local, criaram uma distribuição espacial similar da doença.

Quando se analisou a incidência, observou-se que nas parcelas de *P. elliotii* var. *elliotii* (4 e 12), esta foi superior do que as encontradas nas parcelas de *P. taeda* (9 e 10), concordando com IVORY (1987), que colocou *P. elliotii* var. *elliotii*, como a mais suscetível de todas as espécies. O aumento da incidência no decorrer do período foi também maior comparando-se as duas espécies, sendo que nas parcelas de *P. taeda*, houve uma tendência à estabilização (2,74 e 4,15% nas parcelas 10 e 9, respectivamente), enquanto que em *P. elliotii* var. *elliotii*, o ataque ocorreu de forma progressiva, em todas as épocas do ano e que ao final do período (11,11 % e 13,41 %, nas parcelas 4 e 12, respectivamente).

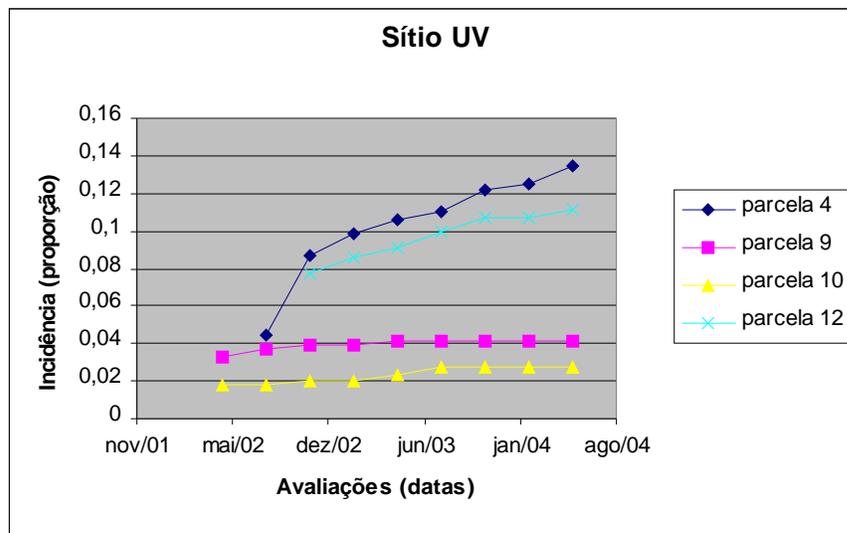
TABELA 13 - DIFERENÇAS ENTRE ÍNDICES DE DISPERSÃO DA ARMILARIOSE NO SÍTIO UV.

Sítios	UV/4	UV/9	UV/10	UV/12
UV/4	-	-0,253n. s.	-0,885*	-0,346*
UV/9	0,253n. s.	-	-0,631*	-0,093n. s.
UV/10	0,885*	0,631*	-	0,538*
UV/12	0,346*	0,093n. s.	-0,538*	-

* Diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

n. s. = Diferença não significativa entre médias.

FIGURA 9 - INCIDÊNCIA DE ÁRVORES DOENTES NO SÍTIO UV, ENTRE 2002 e 2004.



4.2.4 Sítio Calmon – 1ª rotação (CL)

Os resultados revelaram que a parcela 13 ($I\beta = 2,355$) diferiu estatisticamente das demais, e observou-se grande concentração de restos vegetais em alguns pontos da parcela (TABELA 14). Isto pode ter contribuído para a alta agregação da doença, mesmo sendo instalada no mesmo talhão da parcela 14 ($I\beta = 1,564$), esta apresentando incidência de 20,6 % no final (FIGURA 10), superior às demais. Esta parcela foi instalada em local de solo raso e, o ataque ocorreu de forma mais generalizada, mas a agregação foi inferior à verificada na parcela 13 (9,76 %), localizada no mesmo talhão, que continha resíduos de material lenhoso mais concentrado. O ataque correu de forma crescente em ambas, com estabilização verificada apenas no intervalo entre novembro/03 e fevereiro/04.

As parcelas 15 ($I\beta = 1,778$) e 16 ($I\beta = 1,690$), foram iguais entre si, quanto à agregação da doença, pois trataram-se de talhões que foram submetidos ao mesmo preparo de solo e, plantados com a mesma espécie (*P. taeda*). Os índices de dispersão mantiveram-se sem maiores oscilações, com maior incidência na parcela 15 (10,04 %) em relação à parcela 16 (4,17 %), e foram estáveis na maior parte do período avaliado. Os diferentes níveis de ataque nelas observados, podem ser decorrentes de pressão do inóculo, condições locais de solo, por exemplo, a profundidade, já que as propriedades do solo foram similares.

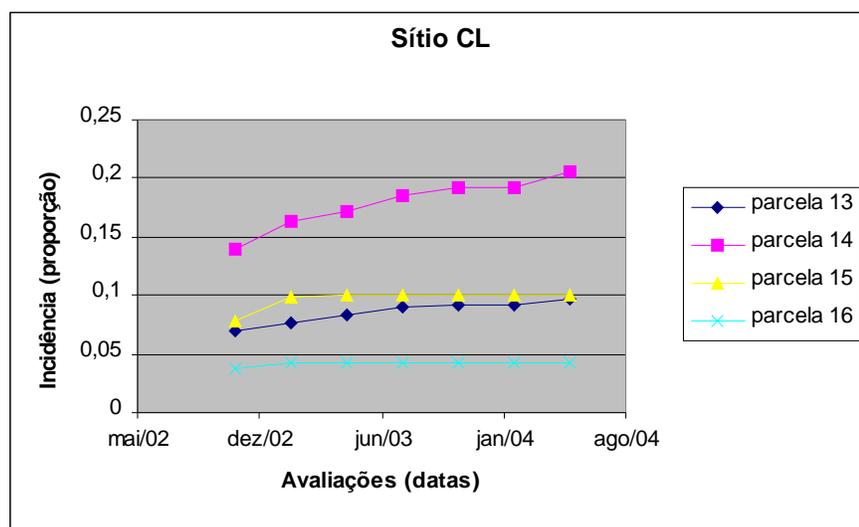
TABELA 14 - ÍNDICES DE DISPERSÃO MÉDIO DA ARMILARIOSE NO SÍTIO CL.

Sítio	Parcela	Média ¹
CL	13	2,355a
CL	15	1,778b
CL	16	1,690bc
CL	14	1,565c

¹Cada valor é a média de sete avaliações.

Valores seguidos de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

FIGURA 10 - INCIDÊNCIA DE ÁRVORES DOENTES NO SÍTIO CL, ENTRE 2002 e 2004.



4.2.5 Comparação entre os Sítios Avaliados

Os resultados da análise estatística que comparou os índices de dispersão médios entre os sítios estão contidos na TABELA 15 e, os cálculos de incidência média ao final do período avaliado e respectivos índices de dispersão por parcela instalada estão contidos na TABELA 16.

Comparando-se os sítios avaliados, apenas CS1 e CS2 foram estatisticamente iguais entre si, entretanto estes diferiram dos demais. Essa conclusão já era prevista, por se tratarem de sítios próximos, plantados com a mesma espécie, *P. elliotii*, apesar de pertencerem a classes etárias e rotações diferentes.

Diversas observações podem ser colocadas, para discutir os dados apresentados. Entre essas, vale salientar a maior tolerância de *P. taeda* à

armilariose em relação a *P. elliotii*, verificada nos sítios UV e CL, avaliando-se a evolução da doença durante o período. Observou-se, de um modo geral, que o ataque na fase inicial em *P. taeda* foi diminuindo no transcorrer do período de avaliação tendendo à estabilização, enquanto que em *P. elliotii* a tendência foi crescente conforme comentado por IVORY (1987).

Quanto à distribuição espacial, os sítios UV e CL, foram também diferentes entre si, mesmo apresentando similaridades quanto às espécies, à região, o preparo de solo e idade da rotação. Alguns fatores de sítio podem ter contribuído para a diferença entre os sítios como é o caso da profundidade do solo. A vegetação anterior pode ter influenciado, segundo as espécies nativas hospedeiras presentes, criando menor ou maior quantidade de inóculo. Outros fatores seriam a pressão do inóculo exercida pela quantidade de restos vegetais ou, a presença de determinados microrganismos na rizosfera exercendo antagonismo em condições naturais, que reduziriam a incidência da doença (COOK, 1991), a probabilidade de expressão de resistência genética intraespecífica, (RYKOWSKI, 1981), e outros ocultos.

A distribuição espacial foi predominantemente agregada em todos os sítios, concordando com BRUHN et al. (1996), em relação à mortalidade causada por *A. ostoyae*. A agregação da armilariose com e entre clusters sugerem duas etapas para a dispersão da doença. Primeiramente, a agregação de material lenhoso podendo constituir uma base inicial para fonte de inóculo do fungo, nas quais as raízes do hospedeiro foram inicialmente infectadas. A segunda etapa do processo infeccioso, seria o contato entre as raízes do hospedeiro infectado com as adjacentes e também com as rizomorfias emitidas a partir dele ou ainda a disseminação de basidiosporos, ainda que mais discreta (SWIFT, 1972; SHAW, 1980).

TABELA 15 - COMPARAÇÃO DOS ÍNDICES DE DISPERSÃO MÉDIOS DA ARMILARIOSE ENTRE OS SÍTIOS CS1; CS2; UV e CL.

Sítios	UV	CL	CS1	CS2
UV	-	0,306*	0,712*	0,860*
CL	-0,306*	-	0,406*	0,554*
CS1	-0,712*	-0,406*	-	0,148 n.s.
CS2	-0,860*	-0,554*	-0,148 n.s.	-

* Diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

n. s. = Diferença não significativa entre médias.

TABELA 16 - INCIDÊNCIA MÉDIA FINAL E ÍNDICE DE DISPERSÃO MÉDIO DA ARMILARIOSE SEGUNDO OS SÍTIOS ESTUDADOS.

Sítio/Parc.	Município	Espécie	Plantio	Rotação	Incidência	I β
CS1/7	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1 ^a	2,667	0,911
CS1/8	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1 ^a	3,125	1,231
CS1/9	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1 ^a	1,348	2,343
CS1/11	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1 ^a	1,871	1,279
CS2/1	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2 ^a	3,758	1,383
CS2/2	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2 ^a	10,444	1,180
CS2/3	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2 ^a	6,593	1,697
CS2/4	Castro/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	1998	2 ^a	4,575	0,911
UV/9	U. Vitória/PR	<i>P. taeda</i>	2001	1 ^a	4,149	2,023
UV/10	U. Vitória/PR	<i>P. taeda</i>	2001	1 ^a	2,740	2,654
UV/4	U. Vitória/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1 ^a	13,411	1,769
UV/12	U. Vitória/PR	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2001	1 ^a	11,111	2,115
CL/15	Calmon/SC	<i>P. taeda</i>	2001	1 ^a	10,042	1,778
CL/16	Calmon/SC	<i>P. taeda</i>	2001	1 ^a	4,167	1,690
CL/13	Calmon/SC	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2000	1 ^a	9,756	2,355
CL/14	Calmon/SC	<i>P. elliotii</i> var. <i>elliotii</i>	2000	1 ^a	20,580	1,565

I β = Índice de dispersão

4.3 DANOS E PERDAS ECONÔMICOS DECORRENTES DA ARMILARIOSE

Compatibilizando-se os dados levantados nas áreas de pinus atacadas pela armilariose com o índice médio de incidência verificado (5,0 % aos cinco anos de idade), correspondendo ao aumento anual da doença em 1% e a prognose de mesmo aumento anual à mesma taxa até o final da rotação (21 % aos 21 anos) obtiveram-se os valores apresentados na TABELA 17.

Os dados revelaram que o decréscimo de produção de madeira por hectare de área atacada, nas duas hipóteses poderia variar entre 36,74 e 154,36 m³, com 5 e 21 % de incidência que reduziriam a receita entre R\$ 3.255,00 e R\$ 13.676,00 respectivamente. A produtividade total seria decrescida entre 8.349,60 e 35.081,55 m³ e, a redução de receita prevista entre R\$ 739.775,00 e R\$ 3.108.225,00, respectivamente.

Considerando-se a redução na produção prevista, os resultados concordam com MACKENZIE (1987), que estimou esta redução entre 26 e 61 m³/ hectare na produção final e, também se encontram dentro do intervalo de progressão anual (0,7 e 1,1 %), observado por GOMES e AUER (2003).

Do ponto de vista do valor de mercado, o preço de toras de pinus que RODIGHERI et al. (2003) utilizou foi de R\$ 50,60/m³, é bem inferior aos preços atuais que foram estimados em R\$ 88,60/m³, verificando-se um reajuste de 75 % nos valores recebidos. Em função dessa valorização, os danos econômicos seriam ainda maiores, aumentando ainda mais o impacto da armilariose, causando danos irreparáveis no setor produtivo florestal, em todos os seus níveis.

TABELA 17 - INDICADORES DE IMPACTOS CAUSADOS PELA ARMILARIOSE, CONSIDERANDO-SE 5,0 % AOS 5 ANOS E 21 % DE INCIDÊNCIA AO FINAL DA ROTAÇÃO, EM 227,28 HECTARES.

Variáveis	Sem doença	5% de incidência	21 % de incidência
Produção total prevista (m ³)	167.050,80	158.701,20	131.969,25
Produção prevista (m ³ /hectare)	735,00	698,26	580,65
Redução de produção (m ³ /hectare)	-	36,74	154,36
Redução total prevista (m ³)	-	8.349,60	35.081,55
Redução de receita/hectare (R\$)	-	3.255,00	13.676,00
Receita revista (R\$)	14.800.701,00	14.060.926,00	11.692.476,00
Redução de receita total (R\$)	-	739.775,00	3.108.225,00

Cumpramos ressaltar que essa área foi preparada, plantada e feitos os devidos tratamentos culturais nos primeiros anos e na atividade florestal, os maiores custos ocorrem normalmente no primeiro ano (preparo do solo, mudas, plantio e tratamentos culturais).

Como a dispersão da armilariose ocorre de forma agregada dentro dos povoamentos florestais, as falhas deixadas pelas árvores mortas, abrem espaço para a formação de clareiras a conseqüentemente dá-se o início à instalação de uma vegetação pioneira, tal como capoeira baixa e na seqüência os outros estágios da sucessão. Do ponto de vista produtivo, isto não é desejável, pois no preparo de solo para a próxima rotação, a vegetação possivelmente em estágio avançado tornar-se-á

um impedimento para a limpeza da área, devido principalmente às restrições criadas pelos órgãos ambientais para remoção desse tipo de vegetação.

Como os danos ocorrem desde a fase inicial do povoamento, portanto sendo irreversíveis, comprometem a expectativa de receita que envolve desde os desbastes até o corte final, e causam uma expressiva redução na rentabilidade da atividade florestal. Além disso, a queda no retorno pode refletir nos investimentos futuros por parte dos silvicultores, que provavelmente terão menos incentivos a continuar ou expandir suas atividades no setor florestal, talvez carreando seus interesses financeiros para outros setores da atividade econômica.

Como consequência desses danos econômicos verificados no valor da produção recebido pelos silvicultores, esses impactos também teriam os seus aspectos negativos na geração de emprego e renda pelos trabalhos de campo durante o manejo e colheita da floresta, devido à falta de árvores causada pela doença. O comprometimento da rentabilidade do setor produtivo florestal pode agravar também o aspecto social dos trabalhadores rurais, contribuindo para o aumento do êxodo rural para os centros urbanos.

5 CONCLUSÕES

A temperatura ótima considerada como adequada para os isolados de *Armillaria* foi de 22 °C.

Com relação à distribuição espacial da armilariose nos sítios avaliados, esta ocorreu de forma agregada. Em relação à incidência, em *P. elliotii* var. *elliotii* manteve-se progressiva revelando-a mais suscetível que *P. taeda*.

Os impactos econômicos foram expressivos e podem comprometer os investimentos em pinus nas áreas atacadas pela armilariose.

REFERÊNCIAS

AGRITEMPO. Disponível em: <http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario>>>
Acesso em 02 mar. 2005.

BEDENDO, I. P. Ambiente e doença. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**: Volume 1: Princípios e Conceitos. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, cap. 18, p.331-341, 1995.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1996. 289 p.

BERGER, R. D.; LUKE, H. H. Spatial and temporal spread of oat crown rust. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, n. 11, p. 1199-1201, 1979.

BRUHN, J. N.; MIHAIL, J. D.; MEYER, T. R. Using spatial and temporal patterns of Armillaria root disease to formulate management recommendations for Ontário's black spruce (*Picea mariana*) seed orchards. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 26, n. 2, p. 298-305, 1996.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: J. Wiley, 1990. 532 p.

CHELLEMI, D. O.; ROHRBACH, K. G.; YOST, R. S.; SONODA, R. M. Analysis of the spatial pattern of plant pathogens and diseases using geostatistics. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 221-226, 1988.

CHELLEMI, D. O.; SONONODA, R. M.; PELOSI, R. R.; COHEN, M. Temporal and spatial comparisons between epidemics of citrus blight and citrus tristeza virus. In: IOCV CONFERENCE, 11, **Proceedings**. Riverside, p.289-296, 1991.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Recomendações de adubação e de calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 3. Ed. Passo Fundo, SBCS- Núcleo Regional Sul, 1994.

DHANVATARI, B. N.; DIRKS, V. A. Bacterial stem rot of greenhouse tomato: etiology, spatial distribution, and the effect of high humidity. **Phytopathology**, v. 77, n. 10, p. 1457-1463, 1987.

FERREIRA, F. A. **Patologia Florestal; principais doenças florestais no Brasil**. Sociedade de Investigações Florestais, Viçosa, 1989, 570 p.

GOMES, N. S. B.; AUER, C. G. Levantamento preliminar de danos em plantios de *Pinus elliottii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, supl. 3, 2003. 1 CD-ROM. Edição dos Resumos da 16ª Reunião do Instituto Biológico, São Paulo 2003.

GOMES, N. S. B.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Temperaturas para desenvolvimento de *Armillaria* sp. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, supl., 2002, p. 278-279. Edição dos Resumos da 15ª Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo 2002.

GOMES, F. P.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**: Exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos, Piracicaba: FEALQ, 2002, 309 p.

GOTTWALD, T. R.; REYNOLDS, K. M.; CAMPBELL, C. L.; TIMMER, L. M. Spatial and spatiotemporal autocorrelation analysis of citrus canker epidemics in citrus nurseries and groves in Argentina,. **Phytopathology**, v. 82, n. 8, p. 843-851, 1992.

GOTTWALD, T. R.; GIDTTII, F. B.; SANTOS, J. M.; CARVALHO, A. C. Preliminary spatial and temporal analysis of Citrus Variegated Chlorosis (CVC) in São Paulo, Brazil, In: IOVC CONFERENCE, 12. Riverside, 1993, **Proceedings**. Riverside: International Organization of Citrus Virologists, p.327-335, 1993.

GOTTWALD, T. R.; AVINENT, L.; LLACER., G. HERMOSO DE MENDOZA, A.; CAMBRA, M. Analysis of spatial spread of sharka (plum pox virus) in apricot and peach orchards in eastern Spain. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 3, p. 266-278, 1995.

GOTTWALD, T. R.; CAMBRA, M.; MORENO, P.; CAMARASA, E.; PIQUER, J. Spatial and temporal analyses of citrus tristeza virus in eastern Spain. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 1, p. 45-55, 1996.

GREIG-SMITH, P. **Quantitative Plant Ecology**. 3 ed. Berkeley: University of California Press, (Studies in ecology v. 9), 1983, 359 p.

HUGHES, G.; MADDEN, L. V. Aggregation and incidence of disease. **Plant Pathology**, London, v. 41, p. 657-660, 1992.

HUGHES, G.; MADDEN, L. V.; MUNKVOLD, G. P. Cluster sampling for disease incidence data. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 2, p. 132-137, 1996.

IVORY, M. H. **Diseases and disorders of pines in the tropics; a field and laboratory manual**. Oxford, Oxford Forest Institute, 92p, 1987.

LAMOUR, A.; JEGER, M. Quantitative aspects of the epidemiology of *Armillaria* in the field . In: R. T. V.FOX (Ed.) **Armillaria Root Rot: Biology and Control of Honey Fungus**, Andover, The University of Reading, U. K., p. 65-77, 2000.

LEGRENDE, P. Spation autocorrelation: trouble or new paradigm? **Ecology**, Temp-Az, v. 74, n. 6, p. 1659-1673, 1993.

LLANOS, L. J.; LIMA, H.; CHÁVEZ, J. O. A statistical method to determine the distribution and expansion of blight. **Proc. Int. Soc. Citriculture**, p. 474-476, 1981.

LUNDQUIST, J. E. Spatial and temporal characteristics of canopy gaps caused by *Armillaria* root disease and their management implications in lowveld forests of South Africa. **European Journal of Forest Pathology**, Hamburg, v. 23, p. 362-371, 1993.

MACKENZIE, M. Infection changes and volume loss in 19-year-old *Pinus radiata* stand affected by *Armillaria* root rot. **New Zealand Journal of Forestry Science**. Rotorua, v. 17, n. 1, p. 100-108, 1987.

MADDEN, L.V. Dynamic nature of within-field disease and pathogens distributions In: M. J. JEGER (Ed.) **Spatial Components of Plant Disease Epidemics**. New Jersey: Prentice-Hall, cap. 5, p. 159-176, 1989.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity and temporal analysis. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 529-564, 1995.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; ELLIS, M. A. Spatial heterogeneity of the incidence of grape downy mildew. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, n. 3, p. 269-275, 1995.

MARCUS, R.; FISHMAN, S.; TALPAZ, H.; SALOMON, R.; BAR-JOSEPH, M. On the spatial distribution of Citrus Tristeza Virus disease. **Phytoparasitica**, v. 12, n. 1, p. 45-52, 1984.

MASUKA, A. The incidence of *Armillaria* root and butt diseases in *Pinus* spp. plantations in Zimbabwe. **Commonwealth Forestry Review**, v. 68, n. 2, p. 121-124, 1989

- MORRISON, D. J. Vertical distribution of *Armillaria mellea* rhizomorphs in soil. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 66, p. 393-399, 1976.
- NELSON, S. C. A simple analysis of disease foci. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 4, p. 332-339, 1996.
- NOE, J. P.; BARKER, K. R. Relation of within-field variation of plant-parasitic nematode population densities to edaphic factors. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, n. 2, p. 247-252, 1985.
- ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1988, 343 p.
- ONO, K. Armillaria root rot in plantations of Hokkaido. Effects of topography and soil conditions on its occurrence. **Bulletin of the Government Forest Experiment Station**, Meguro, v. 179, p. 1-62, 1965.
- ONO, K. Effects of soil conditions on the occurrence of *Armillaria* root rot of the Japanese Larch. **Bulletin of the Government Forest Experiment Station**, Meguro, v. 229, p. 1-219, 1970.
- REDFERN, D. B. Growth and behavior of *Armillaria mellea* rhizomorphs in soil. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 61, p. 569-581, 1973.
- REYNOLDS, K. M.; MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A. Spatio-temporal analysis of epidemic development of leather rot of strawberry. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, p. 246-252, 1988.
- RISHBETH, J. The growth rate of *Armillaria mellea*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 51, n. 3/4, p. 575-586, 1968.
- RISHBETH, J. Effects of soil temperature and atmosphere on growth of *Armillaria* rhizomorphs. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 70, n. 2, p. 213-220, 1978.
- RODIGHERI, H. R.; GOMES, N. S. B.; AUER, C. G. Avaliação ambiental, econômica e social dos danos causados pela armilarirose em plantios de pinus no Brasil. In:

SEMINÁRIO SOBRE A ARMILARIOSE EM *Pinus* spp., 2003, Curitiba. **Anais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003, v. 1, p. 9.

SHAW, C. G., III. Characteristics of *Armillaria mellea* on pine root systems in expanding centers of root rot. **Northwest Science**, v. 54, p. 137-145, 1980.

SHTIENBERG, D.; BLACHINSKY, D.; BEN-HADOR, G.; DINOOR, A. Effects of growing season and fungicide type on the development of *Alternaria solani* and on potato yield. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 9, p. 994-998, 1996.

SWIFT, M. J. The ecology of *Armillaria mellea* (Vahl ex Fries) in the indigenous and exotic woodlands of Rhodesia. **Forestry**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 67-86, 1972.

TAYLOR, L. R. Aggregation, variance and the mean. **Nature**, London, v. 189, p. 732-735, 1961.

TAYLOR, L. R. Assessing and interpreting the spatial distributions insect populations. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 29, p. 321-357, 1984.

TRANGMAR, B. B.; YOST, R. S.; UHARA, G. Application of geostatistics to spatial studies of soil properties. **Adv. Agron.**, v. 38, p. 45-94, 1985.

UPTON, G.; FINGLETON, B. **Spatial data analysis by example, vol.1: Point pattern and quantitative data**. New York: John Wiley & Sons, 1985, 410 p.

WILLIAMS, R. E.; LEAPHART, C. D. A system using aerial photography to estimate area of root disease center in forests, **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 8, p. 214-219, 1978.

VOLLBRECHT, C.; AGESTAM, E. Modelling incidence of root rot in *Picea abies* plantations in southern Sweden, **Scandinavian Journal of Forest Research**, v. 10, p. 74-81, 1995.

VOLLBRECHT, C.; JORGENSEN, B. B. Modelling the incidence of butt rot in plantations of *Picea abies* in Denmark, **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 25, n. 12, p. 1887-1896. 1995.

CAPÍTULO 3

CONTROLE BIOLÓGICO DA ARMILARIOSE COM *Trichoderma viride*

1 INTRODUÇÃO

Os patógenos de solo e do sistema radicular podem ser controlados pela ação de medidas que podem prevenir a formação do inóculo, destruir o inóculo presente em resíduos infestados, reduzir a virulência do patógeno e promover o desenvolvimento das plantas.

A presença de microrganismos antagônicos e competidores aos patógenos pode garantir a boa sanidade do sistema radicular das plantas ou a manutenção da população patogênica em níveis não prejudiciais ao hospedeiro. A proteção biológica contra a infecção pode ser decorrente do estabelecimento de antagonistas que limitem a atuação dos patógenos e ainda constituir o caminho final para tornar um solo em supressivo (HOMECHIN, 1991).

Medidas que acelerem o processo de decomposição de tecidos de plantas infectadas podem ser uma modalidade de controle biológico de patógenos de solo e sistema radicular. Restos orgânicos de vegetais são substratos ideais para prolongar a existência saprofítica de patógenos como *Fusarium roseum*, *Gaeumannomices graminis* e *A. mellea*. Essa existência saprofítica é uma extensão do parasitismo necrotrófico. Propágulos dormentes podem ser estimulados a germinar na ausência do hospedeiro através da ação de nutrientes liberados pela decomposição da matéria orgânica. Este processo é comum em patógenos de solo que não exigem condições especiais para germinar, além de carbono, energia, nitrogênio e vitaminas (HOMECHIN, 1991).

Sem dúvidas, o custo-benefício dos métodos de controle, quer sejam econômico, social ou ecológico, deve ser ponderado para a redução de altas perdas em alguns pomares e amenizá-las em plantios (HOOD et al., 1991; HAGLE e SHAW, 1991). Esses autores sugerem várias maneiras para evitar ou reduzir severamente as perdas causadas pela armilariose em plantios, indispensáveis em uma boa

silvicultura, onde devem ser aplicados métodos de controle culturais eficientes e efetivos.

A pesquisa pode garantir o desenvolvimento de métodos de controle eficientes e não agressivos ao meio ambiente para reduzir perdas em culturas anuais e perenes. Vale citar o controle de podridão de raízes de macieira, causada por *Phytophthora cactorum*, prática de sucesso por vários fatores: a) a necessidade de alternativas para assegurar o replantio em áreas com alta incidência da doença; b) a aceitação prática pelo produtor, devido à facilidade de aplicação; c) a possibilidade de colocar à disposição do produtor o produto biológico no momento e na quantidade desejada; d) o baixo custo de aplicação quando comparado com o uso de fungicidas (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991).

Este estudo teve como objetivo testar o controle biológico da armilariose em focos iniciais da doença em plantios jovens de *Pinus elliotii* var. *Pinus elliotii* e *P. taeda*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A recomendação de controle da armilariose em plantações de *Pinus* spp. tem sido feita no sentido de minimizar a quantidade do inóculo inicial do patógeno na plantação. Ou seja, recomenda-se que, no preparo da área a ser reflorestada com pinus, se faça a limpeza da área recém-desmatada destocando-se e recolhendo-se restos de raízes, tocos e galhos da vegetação nativa anterior, apodrecidos ou não. Esse material deve ser queimado ou destinado à carbonização (IVORY, 1987). Por outro lado, há algum tempo RISHBETH (1976), sugeriu a inoculação de tocos com organismos antagonistas a *Armillaria*, principalmente onde as medidas de extração de tocos e a eliminação de outros restos vegetais fosse impraticável.

IVORY (1987) também recomendou que se evite o plantio de espécies muito suscetíveis, como *P. elliotii*, por exemplo, em locais onde (por registros anteriores) haja grande probabilidade de ocorrer a armilariose de maneira mais freqüente e severa.

SCHUTT (1985) comentou que, embora os conhecimentos sobre a biologia de *Armillaria* tivessem avançado grandemente desde a época de Hartig, a eficiência das medidas de controle, com algumas exceções teriam apenas melhorado. Como resultado do avanço das informações sobre a biologia do fungo, SHAW e KILE (1991) consideraram que o grau de destruição e as formas de expressão desta doença (MORRISON et al., 1991) são determinados pelas espécies e genótipos de *Armillaria* (SHAW et al., 1981; GUILLAUMIN e LUNG, 1985; RISHBETH, 1982; KILE e WATLING, 1988; ROLL-HANSEN, 1985; INTINI, 1989) e as características do inóculo (REDFERN e FILIP, 1991). A resistência ou tolerância inerente ao hospedeiro (THOMAS e RAPHAEL⁷, apud FOX, 2000, p. 151), a adaptação do hospedeiro ao sítio (INTINI, 1989, SINGH e RICHARDSON, 1973), a estrutura do stand e a composição das espécies, o manejo anterior e os fatores do sítio (REDFERN, 1978; BLENIS et al., 1989; GREGORY et al., 1991) também afetam diretamente o patógeno.

A resistência do hospedeiro aos patógenos radiculares é um tópico complexo que envolve características genéticas, tanto do hospedeiro quanto do patógeno bem como as influências do ambiente. Normalmente, os plantios comerciais de pinus envolvem uma mistura de genótipos com diferentes níveis de resistência. Algumas espécies com resistência superior ou tolerantes à infecção em uma determinada localidade pode tornar-se suscetível em outros locais (HAGLE e SHAW, 1991).

Pode ser citado o exemplo de *P. radiata* que, quando plantado na Nova Zelândia sofre consideráveis prejuízos causados pela armilariose (SHAW e CALDERON, 1977), mas a mesma espécie não é atacada da mesma forma pela doença em sua região de origem na América do Norte (RAABE, 1979). Esta variação está provavelmente associada às diferentes espécies de *Armillaria*, pressão do inóculo, condições edafo-climáticas, ou características físicas e biológicas do sítio. Sendo nativa ou exótica, as diferenças fenotípicas entre as árvores podem ser associadas também às condições de sítio e, espécie do patógeno, em condições naturais, onde as plantas crescem bem e em plantações onde os genótipos devem

⁷THOMAS, P. J.; RAPHAEL, T. D. *Armillaria* control in the orchard. **The Tasmanian Journal of Agriculture**, v. 6, p.1-6, 1935.

ser adaptados ao sítio. Doenças e ataque de insetos podem ser sinais evidentes de inadaptação de árvores desenvolvendo-se em sítios desfavoráveis.

2.1 CONTROLE BIOLÓGICO DA ARMILARIOSE

O controle biológico representa antigas e novas tecnologias para o controle de doenças de plantas (COOK, 1991). Em um amplo sentido, inclui todas as práticas agrosilviculturais que ativam a população de microrganismos não patogênicos da rizosfera e filosfera, as quais reduzem a incidência e severidade da doença. BAKER e COOK⁸, citado por RAZIQ (2000, p. 183) definiram controle biológico como a redução da densidade do inóculo ou das atividades de desenvolvimento do patógeno ou parasita, em estado ativo ou dormente, por um ou mais organismos, naturalmente ou por meio da manipulação do ambiente, hospedeiro, antagonista, ou por introdução massal de um ou mais antagonistas.

Os agentes de controle biológico (antagonistas) que podem ser usados para o controle de infecções causadas por *Armillaria* podem ser tanto colonizadores de madeira ou competidores da rizosfera. Eles podem agir por inibição, prevenindo o desenvolvimento do micélio e rizomorfias, pela limitação do substrato já ocupado, pela pré-ocupação do substrato, ou pela eliminação do patógeno (talvez por recolonização) do substrato já ocupado (HAGLE e SHAW, 1991). Para desenvolver estas funções, um antagonista deve apresentar as seguintes propriedades: produzir inóculo em excesso; ser resistente; possuir forma de escape ou ser tolerante a outros antagonistas; possa germinar e crescer rapidamente, invadindo e ocupando substratos orgânicos (BAKER e COOK⁹, apud RAZIQ, 2000, p. 185).

Talvez os antagonistas de *Armillaria* mais estudados sejam as espécies de *Trichoderma* (HAGLE e SHAW, 1991). De acordo com AYTOUN¹⁰, citado por RAZIQ

⁸ BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**, San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1974.

⁹ BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**, San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1974.

¹⁰ AYTOUN, R. S. C. The genus *Trichoderma*: its relationship with *Armillaria mellea* (Vahl ex Fries) Qué. And *Polyporus scweinitzii* Fr., together with preliminary observations on its ecology in woodland soils. **Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Deinburgh**, v. 36, p. 99-114, 1953.

(2000, p. 187) *Trichoderma* é um dos gêneros mais comuns na maioria dos solos. O autor também afirmou que o interesse no gênero foi estimulado por WEINDLING¹¹, que mostrou que *T. lignorum* poderia parasitar outros fungos do solo. Desde então, o gênero tem sido extensivamente estudado por sua atividade antagonística contra muitos patógenos de plantas em diferentes partes do mundo (RAZIQ, 2000). Os isolados são obtidos de solos supressivos por meio de uma série de procedimentos. Dependendo particularmente das características de cada isolado, eles podem agir por competição, pela produção de antibióticos, ou por micoparasitismo (CAMPBELL, 1989). A habilidade de competição de *Trichoderma* pode ser atribuída à tolerância às mudanças nas condições ambientais (BLISS, 1951; MUNNECKE et al., 1981), à capacidade degradativa de vários substratos orgânicos em solo, à versatilidade dos metabólitos, e à resistência aos microrganismos inibidores. Espécies de *Trichoderma* não são somente fonte de vários metabólitos tóxicos, mas também de várias enzimas como exo e endoglucanases, celobiasas, quitinases (PAPAVIZAS, 1985), celulases e proteases e, estas enzimas também permitem que *Trichoderma* parasite diferentes estruturas de fungos patogênicos (RAZIQ, 2000).

AYTOUN¹², citado por RAZIQ (2000, p. 188) estudou as interações *in vitro* de *Trichoderma* e *Armillaria* e concluiu que *Trichoderma* pode ser considerado um possível agente de biocontrole de fungo patogênico. Mas concluiu-se que o grau de parasitismo de *Armillaria* por *Trichoderma*, pode variar de acordo com o pH do meio, pois observou-se que alto grau de parasitismo em pH 3,4 com o antagonista invadindo a colônia do patógeno. Em pH 5,1, o parasitismo foi menos severo e, em pH 7,0, não observou-se antagonismo.

GOMES e AUER (2003) testaram interações *in vitro* de *Trichoderma* sp. e *Armillaria* sp., avaliando o potencial do antagonista contra o patógeno em meio

¹¹WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v. 22, p. 837, 1932.

¹²AYTOUN, R. S. C. The genus *Trichoderma*: its relationship with *Armillaria mellea* (Vahl ex Fries) Quéf. And *Polyporus scweinitzii* Fr., together with preliminary observations on its ecology in woodland soils. **Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Deinburgh**, v. 36, p. 99-114, 1953.

líquido BD (batata-dextrose) por determinação da biomassa produzida. Embora *Trichoderma* tenha colonizado rapidamente o micélio de *Armillaria* por hiperparasitismo, não houve redução significativa da biomassa seca ao final do ensaio.

SOKOLOV¹³, citado por RAZIQ (2000, p. 188) informou que vários fungos, incluindo *Trichoderma*, são antagonistas à *Armillaria*. O autor recomendou o uso de *Trichoderma* para o controle de infecções causadas por *Armillaria*. DUBOS et al. (1978) observou que o meio no qual *T. viride* se desenvolveu, o crescimento das rizomorfias de *Armillaria* foi inibido pelo antagonista. *T. polysporum*, *T. harzianum* e *T. viride* também mostraram ser micoparasitas de rizomorfias de *A. gallica* (DUMAS e BOYONOSKY, 1992).

O micélio de *Armillaria* permaneceu aparentemente inviável na presença de *Trichoderma* quando inoculado em segmento de raízes de citrus incubado entre 20 e 30 °C no escuro, entretanto os pseudoesclerócios produzidos por *Armillaria* permaneceram viáveis por sete anos independentes da presença de *Trichoderma* na superfície dos segmentos por todo o período (BLISS, 1951).

O tempo de aplicação de um antagonista, em relação à infecção da planta hospedeira por *Armillaria*, pode ser crítico no sucesso do controle biológico de doenças de plantas. Um antagonista bem estabelecido na rizosfera poderá impedir a entrada do patógeno, manter a atividade antagonista por um longo período de tempo suficiente para deter o patógeno. Seria oportuno sugerir que o antagonista seja aplicado antecipadamente no solo ou simultaneamente ao patógeno para prevenir as infecções subseqüentes (RAZIQ, 2000).

Em um esforço para limitar o uso de produtos químicos em vista de seus efeitos prejudiciais ao ambiente e ao ser humano, ou onde controle biológico ou químico isoladamente não têm sido efetivos, os pesquisadores têm tentado combinar os dois. De fato, o controle biológico tem ido lado a lado com o controle químico

¹³ SOKOLOV, D. V. **Kornevaya gnil' ot openki i bor'ba s nei. (Root rot caused by *Armillaria mellea* and its control)** (In Russian.) Moscow, Izdatel' stvo Lesnaya Promyshlennost. Canada Department of Forestry, 1964, 235p.

quando se pensava que somente o agente de controle químico seria a medida de controle efetiva para alcançar o objetivo. Fungicidas aplicados ao solo para o controle de doenças afetam a microflora. Torna-se interessante se os fungos antagonistas que constituem parte desta população sejam estimulados, não afetados ou, sejam menos afetados que o patógeno pelo fungicida utilizado como meio de controle aplicado. Então, eles podem dominar o solo tratado crescendo rapidamente na ausência de organismos competidores e, como resultado, ocorrer a exclusão do patógeno do solo (RAZIQ, 2000). BAKER e COOK¹⁴, citado por RAZIQ (2000, p. 195) sugerem que antes de eliminar totalmente o patógeno, é necessário o seu enfraquecimento para torná-lo mais vulnerável ao antagonismo da microflora associada.

Vários exemplos de controle integrado de *Armillaria* são citados pela literatura. BLISS (1951) demonstrou a habilidade de *T. viride* em colonizar *Armillaria* inoculada em segmentos de raízes e, artificialmente fumigados com disulfito de carbono. O autor concluiu que *Armillaria* não foi eliminada diretamente pela ação fungicida do produto mas pelo aumento da população de *Trichoderma* spp. Ele observou que os pseudoesclerócios formados por *Armillaria* dentro do substrato lenhoso resistiram ao ataque por *Trichoderma* na presença de outros microrganismos no solo. Entretanto, a longevidade do patógeno na fase de pseudoesclerócio do ciclo de vida é determinada predominantemente pela disponibilidade da fonte nutricional e outras condições ambientais. Quando o equilíbrio normal foi afetado pela fumigação, *Trichoderma* desenvolveu-se rapidamente, adiantando-se em relação ao mecanismo de proteção da *Armillaria*. Todavia, após a entrada em atividade do pseudoesclerócio, *Trichoderma* requer apenas um tempo para alcançar todas as partes do corpo do fungo e matar o micélio por antibiose.

FILIP e ROTH (1977) isolaram *T. viride* de tocos de *Pinus* nos quais *Armillaria* não permaneceu viável após fumigação. MUNNECKE et al. (1973) sugeriram que

¹⁴ BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**, San Francisco: W. H. Freeman and Company, 1974.

após a fumigação com disulfito de carbono e brometo de metila, o crescimento da *Armillaria* foi retardado, indicando um enfraquecimento do fungo e concluíram que, como *T. viride* é o mais tolerante aos químicos, ele é capaz de desenvolver por um período maior a ação antagonista em *Armillaria*.

Nas interações entre *Armillaria* e *Trichoderma*, o fator crítico, que é favorável ao antagonista, é a tolerância do *Trichoderma* aos fatores de estresse que inibem o crescimento e metabolismo de *Armillaria*. MUNNECKE et al. (1981) relatou que *Trichoderma* spp. foi 1,9 a 3,2 vezes mais resistente ao brometo de metila que *A. mellea*, assim também, foi mais tolerante às condições ambientais adversas ao patógeno.

A temperatura ótima para o crescimento de *A. mellea* em segmentos de madeira e crescendo em solos coletados de locais com armilariose foi relativamente baixa, em torno de 22 °C e alguns isolados do fungo não cresceram a 30 °C (RISHBETH, 1968). Por outro lado, o crescimento de *Trichoderma* spp., especialmente *T. harzianum*, foi favorecido por altas temperaturas (DANIELSON e DAVEY, 1973; MUNNECKE et al., 1981). RAZIQ (1998) observou que os níveis de infecção por *A. mellea* em raízes de macieira em campo no Sul da Inglaterra foram menores quando os antagonistas, incluindo algumas espécies de *Trichoderma*, foram aplicados na 2ª quinzena de maio de 1995 que na 2ª quinzena de junho do mesmo ano. Excepcionalmente com o verão antecipado, foi prolongado o período de altas temperaturas, favorecendo o estabelecimento e proliferação dos antagonistas aplicados mais antecipadamente. O autor concluiu que *A. mellea* foi provavelmente estressada pelo prolongamento do período de altas temperaturas

Conforme VALDEBENITO-SANHUEZA (1988), *Armillaria* afeta outras culturas, como as fruteiras de clima temperado, sendo que pereira e figueira são menos suscetíveis. O autor recomenda a eliminação de todas as raízes das plantas mortas, desinfestação do solo com brometo de metila e, colonização com *Trichoderma*.

Outro exemplo de sucesso é o uso de *Trichoderma* para o controle de podridão de raízes de macieira, causada por *P. cactorum*. A técnica associa uma baixa dose de formaldeído (3%), esterilizante que não polui o solo, com propágulos de *T. viride*, organismo competitivo no solo e antagônico a *P. cactorum*. O antagonista deve ser aplicado sete dias após o tratamento com formaldeído (10 l/cova), incorporando-se ao solo. O replantio deve ser realizado sete a dez dias após a aplicação do *Trichoderma* (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991).

Formaldeído, também foi utilizado em doses sub-letais para o controle de *Armillaria* em pomares de maçã e pêra na China (CHANG et al., 1983), onde a população de *Trichoderma* foi estimulada e, por esse motivo, o controle do patógeno foi atingido.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PRODUÇÃO DE INOCULANTE DE *Trichoderma*

Os ensaios de controle integrado da armilariose em campo, foram instalados utilizando *T. viride*, isolado T-15, fornecido pela Embrapa Uva e Vinho, como agente de biocontrole. Para a produção de inóculo foram utilizados dois substratos preparados a partir de grãos de trigo, conforme recomendação de VALDEBENITO-SANHUEZA (2003, comunicação pessoal) a seguir:

3.1.1 TRIGO REAPROVEITADO (RECICLADO)

Os grãos de trigo que normalmente são descartados após a sua utilização como substrato para a produção de nematóides no controle da vespa-da-madeira (*Sirex noctilio*), foram testados como substrato reciclado para a colonização pelo antagonista. Foram utilizados frascos de vidro com capacidade para 500 ml, esterilizados previamente à 200 °C por uma hora. Na seqüência, foram então colocados 300 g dos grãos de trigo e posteriormente autoclavados por uma hora à 120 °C.

Para a inoculação, foram transferidos quatro discos de 5 mm de diâmetro de micélio-ágar de *T. viride* para cada frasco. Estes permaneceram em condições ambiente até a completa colonização do substrato pelo seu crescimento micelial. Decorrido o período, o conteúdo de cada frasco foi transferido para um cartucho de

papel, com capacidade para 10 kg para secagem à temperatura entre 30 e 40 °C, com ventilação, por 48 horas. Após a secagem o conteúdo foi embalado em doses de 200 g e mantidos em câmara fria até a aplicação.

3.1.2 TRIGO FRESCO

Os grãos de trigo foram previamente colocados em água fria e aquecidos até o ponto de fervura e após, foi retirado o excesso de água. Porções de 200 g foram acondicionadas em sacos plásticos autoclaváveis e posteriormente esterilizadas em autoclave por uma hora a 120 °C.

Para a inoculação, foi preparada uma suspensão de conídios de *T. viride* com concentração de 10⁶ propágulos/ml. Alíquotas de 3 ml foram aplicadas em cada saco plástico contendo o substrato, com seringas descartáveis. Posteriormente, o conteúdo foi homogeneizado e mantido em prateleiras em condições de temperatura ambiente com luz contínua até a colonização completa do substrato, período que variou entre 8 e 10 dias.

Decorrido o período de multiplicação do inóculo, o conteúdo de cada embalagem foi transferido para cartuchos de papel, com capacidade para 10 kg para secagem à temperatura entre 30 e 40 °C, com ventilação, por 48 horas. Após a secagem o conteúdo foi embalado em doses de 200 g e mantidos em câmara fria até a aplicação.

3.2 ENSAIOS EM CAMPO

Os testes de controle da doença em campo foram em sítios onde havia ocorrência de armilariose, em fase inicial de ataque (plantios com um a dois anos de idade), que foram escolhidos em diferentes municípios do estado do Paraná e um em Santa Catarina, para a instalação dos ensaios de antagonismo em campo.

A metodologia utilizada por VALDEBENITO-SANHUEZA (1991) para controle biológico de *P. cactorum* em macieira, foi adaptada para aplicação em pinus, que consistiu no tratamento com formaldeído 2% (10 l/foco), por meio de rega, como esterilizante anteriormente à aplicação do antagonista.

Nos povoamentos, foram selecionados focos novos de armilariose, ocorrendo isoladamente, isto é, ao redor da planta morta deveriam estar presentes pelo menos

cinco plantas sadias dentro de raio aproximado de 10 m, sem estar caracterizada uma agregação, que é a forma de dispersão mais comum apresentada pela doença. A parcela foi constituída de 25 plantas, sendo a central aquela que foi morta pela armilariose. Posteriormente, foi feito o coroamento de 1,0 m de diâmetro, por meio de capina, para implementação dos tratamentos subseqüentes e codificados:

Tratamento 1 (C): As plantas não receberam qualquer tratamento (Controle).

Tratamento 2 (F): Aplicação somente do esterilizante (formaldeído 2%).

Tratamento 3 (TA): 30 dias após a aplicação do esterilizante, incorporou-se 200 g de trigo fresco autoclavado (uma hora, 120 °C), sem inóculo, por planta morta ao solo por meio de enxada.

Tratamento 4 (TR): 30 dias após a aplicação do esterilizante, incorporou-se 200 g de trigo fresco colonizado por *Trichoderma*, contendo apenas conídios do antagonista, ao solo.

Tratamento 5 (RM): 30 dias após a aplicação do esterilizante, incorporou-se 200 g do trigo reciclado colonizado por *Trichoderma*, contendo apenas micélio do antagonista, ao solo.

Tratamento 6 (RMC): 30 dias após a aplicação do esterilizante, incorporou-se 200 g do trigo reciclado colonizado por *Trichoderma*, contendo micélio e conídios do antagonista, ao solo.

Foram instalados cinco ensaios para testar a utilização do trigo reciclado (Ensaio 1 e 2) e grãos de trigo fresco colonizados por *T. viride* (Ensaio 3, 4 e 5). Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 10 parcelas de 25 plantas por tratamento:

3.2.1 Ensaio 1

Instalado em abril/03, no município de Castro/PR, Distrito de Abapan, com altitude média local de 940 m, em povoamento de *P. elliotii* var. *elliotii* com idade média de 18 meses, para testar os tratamentos: 1(C), 5 (RM) e 6 (RMC).

3.2.2 Ensaio 2

Instalado em maio/03, no município de Calmon/SC, com altitude média local de 1130 m, em povoamento de *P. taeda* com idade média de 18 meses, repetindo-se os tratamentos: 1(C), 5 (RM) e 6 (RMC).

3.2.3 Ensaio 3

Instalado em agosto/03, no município de Castro/PR, Distrito de Abapan, com altitude média local de 940 m, em povoamento de *P. elliottii* var. *elliottii* com idade média de 18 meses, para testar os tratamentos: 1(C), 2 (F), 3 (TA) e 4 (TR).

3.2.4 Ensaio 4

Instalado em julho/03, no município de Calmon/SC, com altitude média local de 1130 m, em povoamento de *P. taeda* com idade média de 18 meses, testando-se os tratamentos: 1(C), 2 (F), 3 (TA) e 4 (TR).

3.2.5 Ensaio 5

Instalado em agosto/03, no município de Porto Vitória/PR, com altitude média local de 970 m, em povoamento de *P. taeda* com idade média de 12 meses, comparando-se os tratamentos: 1(C), 2 (F), 3 (TA) e 4 (TR).

Todos os ensaios foram avaliados aos 6 e 12 meses, por meio da contagem das plantas mortas, dentro de cada parcela, excluindo-se a planta central que já estava morta.

Como a variável resposta é uma contagem, ajustou-se primeiramente um modelo Poisson para o delineamento inteiramente ao acaso. A análise de cada tratamento foi realizada verificando-se o seu contraste em relação à testemunha (C), pelo teste de F aos níveis de 1 e 5 % de probabilidade, utilizando a contagem feita após 12 meses contados a partir da implantação.

Para a verificação do ajuste do modelo, foi utilizado o gráfico meio normal (*half-normal-plot*) com envelope simulado (COLLETT¹⁵, apud COSTA, 2003, p. 66), conforme ANEXO 3.

¹⁵ COLLETT, D. **Modelling binary data**, London: Chapman e Hall, 1991, 369p.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIOS COM TRIGO REAPROVEITADO (RECICLADO)

4.1.1 Ensaio 1

Os resultados do ensaio que foi instalado em Castro (*P. elliptii* var. *elliptii*), visando a avaliação de trigo reaproveitado (reciclado) colonizado por *T. viride*, RM e RMC, contendo micélio e micélio conídios, respectivamente, *versus* Testemunha (C), estão contidos na TABELA 18.

TABELA 18 - ENSAIO 1: RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS CONTRASTES DAS MÉDIAS DOS TRATAMENTOS PARA O MODELO DE POISSON

Contrastes	g. l.	Valor de F	Probabilidade
C <i>versus</i> RM	1	6,45	0,0163
C <i>versus</i> RMC	1	1,62	0,2124

Observou-se que apenas o tratamento utilizando resíduo com micélio diferiu da testemunha ao nível de 5 % de probabilidade e o tratamento RMC não foi eficiente no controle, provavelmente a alguns fatores que devem ser ponderados. Quando o ensaio foi instalado, em abril/03, a incidência da doença era aparentemente baixa com poucos focos presentes, muitos deles constituídos por plantas mortas há algum tempo, provavelmente durante o inverno/primavera do ano anterior. Entretanto, fez-se necessário utilizá-los para a montagem do ensaio, portanto sem a certeza total da sanidade das plantas vizinhas, aparentemente sadias.

A aplicação da solução de formaldeído, no raio de 1,0 m talvez não tenha sido suficiente para o enfraquecimento do patógeno, pois provavelmente as rizomorfias emitidas da fonte central de inóculo, estariam fora do raio de aplicação, devido ao tempo transcorrido entre o ataque e a instalação do ensaio. Desse modo, a eficiência do tratamento RM observada poderia até ser melhorada, se o ensaio fosse instalado em focos novos, isto é, com plantas recentemente mortas ou se possível ainda amareladas e, utilizando um maior número de repetições, para corrigir essa possível falha na seleção dos focos a serem tratados.

4.1.2 Ensaio 2

Os resultados do ensaio que foi instalado em Calmon (*P. taeda*), visando a avaliação de trigo reaproveitado (reciclado) colonizado por *T. viride*, RM e RMC, contendo micélio e micélio conídios, respectivamente, *versus* Testemunha (C), estão contidos na TABELA 19.

TABELA 19 - ENSAIO 2: RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS CONTRASTES DAS MÉDIAS DOS TRATAMENTOS PARA O MODELO DE POISSON

Contrastes	g. l.	Valor de F	Probabilidade
C <i>versus</i> RM	1	0,14	0,7079
C <i>versus</i> RMC	1	1,05	0,3154

Este ensaio foi instalado na mesma época do anterior, e similarmente nos focos selecionados a mortalidade não era recente. Como comentado anteriormente, a aplicação do esterilizante também pode não ter sido eficiente no enfraquecimento do patógeno. Nenhum dos tratamentos utilizados diferiu significativamente da testemunha, porém, foi observado visualmente que a mortalidade geral nos focos reduziu-se de forma expressiva. Alguns pontos que podem explicar tal comportamento devem ser discutidos. O primeiro deles refere-se à espécie plantada, *P. taeda*, que é mais tolerante à armilarirose, de acordo com IVORY (1987). Considerando-se a afirmação do autor, os resultados que foram encontrados, quando foi avaliada a evolução da armilarirose, vêm a confirmar que a doença ocorreu progressivamente na fase mais jovem dos plantios, estabilizando-se com o avanço da idade. Provavelmente esta pode ser uma característica da espécie florestal que no transcorrer do tempo, torna-se tolerante à doença ou ainda o crescimento vigoroso das plantas é que favoreceria a resistência do hospedeiro.

Como não foi verificada a eficiência dos tratamentos utilizando trigo reaproveitado (reciclado) colonizado por *Trichoderma*, sugere-se a realização de novos estudos utilizando um maior número de repetições e, somando-se a isto a seleção de focos deve ser mais rigorosa, escolhendo-se aqueles com árvores mais jovens. Estes ensaios seriam implantados na estação do ano mais apropriada, entre

o final do inverno e durante a primavera, pois a maior quantidade de árvores mortas é observada durante este período do ano.

Deve-se também salientar que esse tipo de substrato (trigo reaproveitado ou reciclado) nem sempre é disponível, principalmente nos períodos acima citados que são os mais oportunos para o controle biológico da armilariose. Entretanto, quando os cuidados acima recomendados, puderem ser tomados será possível uma maior eficiência do tratamento no processo de enfraquecimento do patógeno, fundamental para que o antagonista encontre condições de se instalar e, com isto poder controlar melhor o desenvolvimento do patógeno.

4.2 ENSAIOS COM TRIGO FRESCO

4.2.1 Ensaio 3

Os resultados do ensaio que foi instalado em Castro (*P. elliotii* var. *elliotii*), utilizando *T. viride* colonizado em trigo fresco (T), formol (F) e trigo autoclavado (TA), versus Testemunha (C), estão contidos na TABELA 20.

TABELA 20 - ENSAIO 3: RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS CONTRASTES DAS MÉDIAS DOS TRATAMENTOS PARA O MODELO DE POISSON

Contrastes	g. l.	Valor de F	Probabilidade
C versus F	1	11,98	0,0030
C versus TA	1	1,50	0,2355
C versus TR	1	16,92	0,0006

Observou-se que a aplicação da solução de formaldeído sem tratamento complementar (F) diferiu do controle ao nível de 5 % de probabilidade, a adição de trigo autoclavado (TA) após o formaldeído, não diferiu da testemunha (C). A incorporação de *T. viride* em trigo fresco (TR), diferiu da testemunha a 1 % de probabilidade, comprovando sua eficiência ao nível esperado.

A seleção de focos novos foi possível devido à sua implantação durante o inverno, estação do ano em que foi observado o maior avanço na mortalidade. Houve um grande aumento do ataque às plantas e, devido ao grande número de focos observados, a seleção pôde ser mais rigorosa. Possivelmente os pontos de aplicação

de formaldeído foram adequados para atingir a fonte de inóculo, impedindo a emissão das rizomorfias, tornando o tratamento para enfraquecimento de patógeno mais eficiente. Apesar da eficiência do tratamento F, estar abaixo do esperado, o resultado encontrado pôde ratificar a observação acima, pois com o impacto inicial sobre o patógeno, o antagonista presente no solo teve seu desenvolvimento favorecido (CHANG et al., 1983).

Os resultados encontrados podem contribuir para o avanço nos estudos de controle da armilariose, abrindo espaço inclusive para se testar diferentes dosagens, tratamentos com formaldeído e *Trichoderma* antes do plantio em áreas infectadas, a serem reformadas, entre outros.

4.2.2 Ensaio 4

Os resultados do ensaio que foi instalado em Calmon (*P. taeda*), utilizando *T. viride* colonizado em trigo fresco (T), formol (F) e trigo autoclavado (TA), versus Testemunha (C), estão contidos na TABELA 21

TABELA 21 - ENSAIO 4: RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS CONTRASTES DAS MÉDIAS DOS TRATAMENTOS PARA O MODELO DE POISSON

Contrastes	g. l.	Valor de F	Probabilidade
C versus F	1	0,11	0,7404
C versus TA	1	0,53	0,4776
C versus TR	1	5,64	0,0324

Analisando-se os tratamentos aplicados *versus* a testemunha, observou-se que os tratamentos F e TA não diferiram da testemunha (C). O tratamento TR, diferiu a 5 % de probabilidade, embora estando abaixo do esperado. A seleção de focos também foi feita na época de inverno, quando a mortalidade das árvores parecia ter ocorrido recentemente (focos novos) que permitiriam uma melhor eficiência da aplicação de formaldeído, para o enfraquecimento do patógeno e restringindo a dispersão por meio das rizomorfias.

A evolução da doença em *P. taeda*, em Calmon, foi menos acentuada no ensaio, o que poderia explicar a ineficiência dos tratamentos sem aplicação do

antagonista, pois foram comparados com a testemunha, que por sua vez também não esteve tão sujeita ao ataque. A aplicação de *T. viride* após o tratamento esterilizante em *P. taeda* foi menos eficiente do que a observada em *P. elliottii* em Castro, mas pode ser considerado um bom resultado, pois ainda foi melhor que os tratamentos que não aplicaram o antagonista.

4.2.3 Ensaio 5

Os resultados do ensaio que foi instalado em Porto Vitória (*P. taeda*), utilizando *T. viride* colonizado em trigo fresco (T), formol (F) e trigo autoclavado (TA), *versus* Testemunha (C), estão contidos na TABELA 22.

TABELA 22 - ENSAIO 5: RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS CONTRASTES DAS MÉDIAS DOS TRATAMENTOS PARA O MODELO DE POISSON.

Contrastes	g. l.	Valor de F	Probabilidade
C <i>versus</i> F	1	0,21	0,6572
C <i>versus</i> TA	1	1,59	0,2283
C <i>versus</i> TR	1	2,35	0,1464

Neste ensaio observou-se que todos os tratamentos utilizados não diferiram da testemunha (C). O ensaio tal como os outros instalados envolvendo a utilização do antagonista em trigo fresco, foi implantado na mesma época do ano, portanto em focos novos. Entretanto, um comportamento diferencial entre os demais pode ser acrescentado pois, embora sendo *P. taeda*, o ataque inicial foi alto e assim continuou durante o período estudado (julho/03 a agosto/04) não reduzindo a incidência durante os meses de verão, como seria esperado.

Numa análise global do ensaio 5, pode-se considerar os seguintes aspectos: alguns fatores locais podem ter influenciado o comportamento da doença como por exemplo a pequena profundidade do solo, pois observou-se com muita frequência, afloramento rochoso. Observou-se também a presença de muitos restos vegetais que não foram eliminados nas operações de preparo de solo, concordando com IVORY (1987). Considerando-se a intensidade de ataque do patógeno na área e a

ocorrência de grande número de focos, talvez a aplicação do formaldeído em 1 m de diâmetro não deva ter sido suficiente para deter a fonte central do inóculo.

Outro aspecto a ser levantado é a possibilidade de entrelaçamento entre raízes sadias com as contaminadas e rizomorfias, que surgiram de fontes vizinhas e com isto a ação do tratamento perdeu sua eficiência. Apesar do menor número de plantas mortas nas parcelas, o tratamento com *T. viride*, também não diferiu estatisticamente da testemunha.

Acerca dos ensaios de controle realizados, alguns procedimentos poderiam ser modificados, entre eles, a época de instalação que deveria ser entre o final do inverno e durante a primavera. Portanto, abrangeria a época do ano que se observa geralmente a maior mortalidade e, com a fonte de inóculo em sua fase inicial, a eficiência da aplicação de formaldeído poderia ser melhorada.

Considerando-se o efeito da temperatura sobre a interação patógeno-antagonista, *Armillaria* tem seu ótimo de temperatura em torno de 22 °C, não crescendo bem à maiores temperaturas (RISHBETH, 1968) e para *Trichoderma*, as temperaturas altas do solo seriam estimuladoras (DANIELSON e DAVEY, 1973; MUNNECKE et. al., 1981; RAZIQ, 1998), isto vem enfatizar que o controle com *Trichoderma* deva ser realizado durante o período acima recomendado.

Também o intervalo entre o tratamento com formaldeído e a incorporação do agente antagonista ao solo deve ser diminuído de em média 30 dias, que foi utilizado, para um prazo mínimo possível (RAZIQ, 2000), em torno de sete dias (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991), suficiente para o processo de desinfestação do solo. Com a aplicação antecipada, diminuiria a colonização por outros microrganismos indesejáveis que poderiam influenciar negativamente no processo de colonização da rizosfera por *Trichoderma*.

Em ensaios de campo, onde ocorre infecção natural, não existe uniformidade na severidade entre as plantas doentes nos diferentes focos, sendo assim, quando submete-se estas plantas a um mesmo tratamento, os resultados podem ser bastante heterogêneos. Os sintomas externos de amarelecimento e/ou morte das árvores não são suficientes para precisar qual a situação e o desenvolvimento do

patógeno no solo. Deste modo, tanto a aplicação do esterilizante como do antagonista, podem não ser suficientes para controlar o patógeno.

5 CONCLUSÕES

O controle biológico da armilariose mostrou-se eficiente quando do uso de grãos de trigo fresco colonizado por *Trichoderma viride*.

A aplicação de tratamentos esterilizantes deve ser feita durante o inverno e início da primavera.

Houve redução do ataque nos focos tratados.

A eficiência do controle biológico com *T. viride* variou em função do local e espécie plantada, onde foram aplicados os testes.

O trigo reaproveitado não mostrou-se apropriado para ser utilizado como substrato de *T. viride* no controle de *Armillaria* em pínus.

REFERÊNCIAS

- BLÉNIS, P. V.; MUGALA, M. S.; HIRATSUKA, Y. Soil affects *Armillaria* root rot lodgepole pine. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 19, n. 12, p. 1638-1641, 1989.
- BLISS, D. E. The destruction of *Armillaria mellea* in citrus soils. **Phytopathology**, St. Paul, v. 41, p. 665-683, 1951.
- CAMPBELL, R. **Biological control of microbial plant pathogens**, Cambridge: Cambridge University Press, 1989.
- CHANG, L. W.; LIU, Q. F.; CAO, X. W. Experiments on the control of the root rot disease (*Armillaria tabescens*) of fruit trees by using formaldehyde. **Acta Phytopathologica Sinica**, v. 13. p. 37-43. (Em chinês), 1983.
- COOK, I. Biological control of plant diseases: broad concepts and applications. In: **The biological control of plant diseases. Proceedings of the International Seminar on Biological Control of Plant Diseases and Virus Vectors**. FFTC, Taipei. Ed. Bay-Peterson, p. 1-29, 1991.
- COSTA, S. C. **Modelos lineares generalizados mistos para dados longitudinais**. Piracicaba, 2003, 125 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- DANIELSON, R. M.; DAVEY, R. B. The abundance of *Trichoderma* propagules and distribution of species in forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 5, p. 485-494, 1973.
- DUBOS, B.; GUILLAUMIN, J. J.; SCHUBERT, M. Action du *Trichoderma viride* Pers. Approté avec divers substrats organiques, sur l'initiation et la croissance des rhizomorphes d' *Armillaria mellea* (Vahl) Karst. dans deux types de sols. **Annales de Phytopathologie**, v. 10, p. 187-196, 1978.
- DUMAS, M. T; BOYONOSKY, N. W. Scanning electron microscopy of mycoparasitism of *Armillaria* rhizomorphs by species of *Trichoderma*. **European Journal of Forest Pathology**, Hamburg, v. 22, n. 6/7, p. 379-383, 1992.
- FILIP, G. M.; ROTH, L. F. Stump infections with soil fumigants to eradicate *Armillaria mellea* from young-growth ponderosa pine killed by root rot. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 7, p. 226-231, 1977.
- FOX, R. T. V. Cultural methods to manage *Armillaria*. In: FOX, R. T. V. (Ed.) **Armillaria Root Rot: Biology and Control of Honey Fungus**, Andover, 2000, p. 151-171.

GOMES, N. S. B.; AUER, C. G. Potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. *in vitro* contra *Armillaria* sp. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 1, p. 61-62, 2003.

GREGORY, S. C.; RISHBETH, J.; SHAW, C. G. III. Pathogenicity and virulence. In: SHAW, C. G., III; KILE, G. A. (Ed.) **Armillaria Root Disease**, Agriculture Handbook n.691, Forest Service-USDA, Washington, D.C., 1991, p. 122-149.

GUILLAUMIN, J. J.; LUNG, B. Etude de la specialisation d'*Armillaria mellea* (Vahl) Kumm. et *Armillaria obscura* (Secr.) Herink en phase saprophytique et en phase parasitaire. **European Journal of Forest Pathology**, Hamburg, v.15, n. 5/6, p. 342-349, 1985.

HAGLE, S. K.; SHAW, C. G., III Avoiding and reducing losses from *Armillaria* root rot disease. In: SHAW, C.G., III; KILE, G. A. (Ed.) **Armillaria Root Disease**. Agriculture Handbook, n. 691, Forest Service-USDA, , Washington, D.C., 1991, p. 157-173.

HOMECHIN, M. Controle biológico de patógenos do solo. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura, p. 7-23, 1991.

HOOD, I. A.; REDFERN, D. B.; KILE, G. A. *Armillaria* in Planted Hosts. In: SHAW, C. G., III; KILE, G. A. (Ed.) **Armillaria Root Disease**, Agriculture Handbook n.691, Forest Service-USDA, Washington, D.C., 1991, p. 122-149.

INTINI, M. G. Observations on the occurrence of *Armillaria ostoyae* na *Abies alba* (silver fir) in Italy. In: **Proceedings of the 7th International conference on Root and Butt Rots**, August 9-16, 1988, Vernon and Vitoria, B. C. Ed D. J. Morrison, , Vitoria, B. C.: International Union of Forestry Research Organizations, p. 252-256, 1989.

IVORY, M. H. **Diseases and disorders of pines in the tropics; a field and laboratory manual**. Oxford, Oxford Forest Institute, 1987, 92p.

KILE, G. A.; WATLING, R. Identification and occurrence of Australian *Armillaria* species, including *A. pallidula* sp.nov. and comparative studies between them and non-Australian tropical and Indian *Armillaria*. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 91, p. 305-315, 1988.

- MORRISON, D. J.; WILLIAMS, R. E.; WHITNEY, R. D. Infection, disease development, diagnosis, and detection. In: C. G. SHAW, III; G. A. KILE (Ed.) **Armillaria Root Disease**. Agriculture Handbook, n. 691, Forest Service-USDA, Washington, D.C., 1991, p. 62-75.
- MUNNECKE, D. E.; WILBER, W. D.; DARLET, E. F. Effects of methyl bromide or carbon disulfide on *Armillaria* and *Trichoderma* growing on agar medium and relation to survival of *Armillaria* in soil following fumigation. **Phytopathology**, St. Paul, v. 63, p. 1352-1357, 1973.
- MUNNECKE, D. E.; KOLBEZEN, M. J.; WILBUR, W. D.; OHR, H. D. Interactions involved in controlling *Armillaria mellea*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 65, n. 5, p. 384-389, 1981.
- PAPAVIZAS, C.G. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 23-54, 1985.
- RAABE, R. D. Resistance or susceptibility of certain plants to *Armillaria* root rot. **Cooperative Extension Service Leaflet**, n. 2191, 11p., Berkeley: University of California, 1979.
- RAZIQ, F. **Biological and integrated control of the root rot caused by *Armillaria mellea***. Ph D. Thesis. U.K.: University of Reading, 1998.
- RAZIQ, F. Biological and integrated control of *Armillaria* root rot. In: FOX, R. T. V. (Ed.) **Armillaria Root Rot: Biology and Control of Honey Fungus**, Andover, 2000, p. 183-201.
- REDFERN, D. B. Infection by *Armillaria mellea* and some factors affecting host resistance. **Forestry**, v. 51, p. 120-135, 1978.
- REDFERN, D. B.; FILIP, G. M. Inoculum and infection. In: C. G. SHAW, III; G. A. KILE (Ed.) **Armillaria Root Disease**. Agriculture Handbook, n. 691, Forest Service-USDA, Washington, D.C., 1991, p. 48-61.
- RISHBETH, J. The growth rate of *Armillaria mellea*. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 51, n. 3/4, p. 575-586, 1968.
- RISHBETH, J. Chemical treatment and inoculation of hardwood stumps for control of *Armillaria mellea*, **Annals of Applied Biology**, v. 82, n. 1, p. 57-70, 1976.
- RISHBETH, J. Species of *Armillaria* in southern England. **Plant Pathology**, Cambridge, v. 31, n. 1, p. 9-17, 1982.

ROLL-HANSEN, F. The *Armillaria* species in Europe. **European journal of Forest Pathology**, Hamburg, v. 15, n. 1, p. 22-31, 1985.

SCHUTT, P. Control of root and butt rots: limits and prospects. **European Journal of Forest Pathology**, Hamburg, v. 15, n. 5/6, p. 357-363, 1985.

SHAW, C. G.; III; KILE, G. A. **Armillaria Root Disease**. Forest Service Handbook, n.691, Washington, D.C.; USDA, 1991, 239p .

SHAW, C. G.; III; CALDERON, S. Impact of *Armillaria* root rot in plantations of *Pinus radiata* established on sites converted from indigenous forest. **New Zealand Journal of Forestry Science**, Rotorua, v. 7, p. 359-373, 1977.

SHAW, C. G.; III; MACKENZIE, M.; TOES, E. H. A. Cultural characteristics and pathogenicity to *Pinus radiata* of *Armillaria novae-zelandiae* and *A. limonea*. **New Zealand Journal of Forestry Science**, Rotorua, v. 11, p. 65-70, 1981.

SINGH, P.; RICHARDSON, J. *Armillaria* root rot seeded areas in Newfoundland, **Forestry Chronicle**, Quebec, v. 49, p. 180-182, 1971.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. **Podridão de raízes de macieira.**, Embrapa Documentos, n. 2, 16p., 1988.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura, p. 303-305, 1991.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mapeamento de distribuição da armilariose na região Sul do Brasil e os avanços na identificação do agente causal apresentados fazem parte de um trabalho que deve ter continuidade, devido a importância desta doença na atividade florestal, que muitos danos tem causado ao setor e ainda é desconhecida por muitos técnicos e silvicultores.

Um bom trabalho de informação junto aos profissionais envolvidos na atividade florestal é imprescindível, para se obter dados mais atualizados da sua ocorrência e extensão de danos. Somente o conhecimento real da sua extensão e a consciência de sua importância podem abrir espaço para a adoção das medidas eficazes visando redução de perdas e implementação de métodos de controle, principalmente no início da rotação, quando sua observação torna-se mais fácil e também o acompanhamento da sua progressão. Isto pode contribuir de maneira decisiva na tomada de decisões na atividade, tornando-a mais técnica e também atrativa economicamente, fatores estes indispensáveis para a sustentabilidade da atividade florestal envolvendo o gênero *Pinus* na região Sul do Brasil.

Considerando os principais aspectos abordados, concluiu-se que as medidas utilizadas no preparo de solo visando principalmente a eliminação de restos vegetais, sejam elas, destoca, enleiramento, usadas isoladamente ou em conjunto, podem contribuir para redução das perdas causadas por armilariose. A qualidade de mudas utilizadas, principalmente com boa formação do sistema radicular, poderão proporcionar um bom desenvolvimento no campo, garantindo melhor resistência a condições climáticas adversas, sendo uma medida imprescindível para também reduzir as perdas causadas, quando os povoamentos de *Pinus* forem implantados em áreas com presença de *Armillaria*.

Outro fator que deve ser considerado é a qualidade de sítio, principalmente a profundidade de solo, que tem se mostrado um fator altamente favorável ao processo infeccioso da doença. Porém, as áreas destinadas ao reflorestamento ou

que estão sendo adquiridas para não privilegiarem a escolha de solos com boa profundidade.

ANEXO 1

INTERPRETAÇÃO GERAL DOS RESULTADOS DAS ANÁLISES DE SOLO DAS PARCELAS PERMANENTES: QUÍMICA E FERTILIDADE PARA MACRONUTRIENTES E GRANULOMETRIA

Sítio/Parcela	pH (H ₂ O)	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K	P	M.O. (%)	Classe
a							
CS 1/7	Médio	Baixo	Baixo	Limitante	Limitante	Alto	5
CS 1/8	Baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Limitante	Médio	5
CS 1/9	Baixo	Baixo	Médio	Limitante	Limitante	Alto	5
CS 1/11	Muito baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Muito baixo	Alto	4
CS 2/1	Baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Limitante	Médio	5
CS 2/2	Muito baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Muito baixo	Alto	4
CS 2/3	Muito baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Baixo	Médio	3
CS 2/4	Muito baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Limitante	Alto	5
UV/4	Baixo	Baixo	Médio	Muito baixo	Baixo	Alto	2
UV/9	Muito baixo	Baixo	Baixo	Muito baixo	Muito baixo	Alto	3
UV/10	Muito baixo	Baixo	Baixo	Muito baixo	Muito baixo	Médio	3
UV/12	Muito baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Muito baixo	Alto	3
CL/13	Muito baixo	Baixo	Baixo	Muito baixo	Muito baixo	Alto	4
CL/14	Muito baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Alto	2
CL/15	Muito baixo	Baixo	Baixo	Limitante	Baixo	Alto	2
CL/16	Muito baixo	Baixo	Baixo	Muito baixo	Muito baixo	Alto	2

Classe 1: > 55 % de argila

Classe 2: 41 a 55 % de argila

Classe 3: 26 a 40 % de argila

Classe 4: 11 a 25 % de argila

Classe 5: 10 % de argila

Classe 6: solos alagados

Fonte: COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC (1994)

ANEXO 2

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DAS DETERMINAÇÕES DE COBRE E ZINCO PARA OS SOLOS DAS PARCELAS PERMANENTES

Sitio/ Parcela	Cobre	Teor no solo	Zinco	Teor no solo
	mg.L ⁻¹		mg.L ⁻¹	
CS 1/7	0,3	*	0,7	**
CS 1/8	0,3	*	0,6	**
CS 1/9	0,2	*	0,5	*
CS 1/11	0,3	*	0,7	**
CS 2/1	0,3	*	0,2	*
CS 2/2	0,3	*	0,5	*
CS 2/3	0,2	*	0,8	**
CS 2/4	0,2	*	0,3	*
UV/4	0,4	*	0,7	**
UV/9	0,4	*	0,8	**
UV/10	0,3	*	0,8	**
UV/12	0,2	*	0,7	**
CL/13	0,4	*	0,7	**
CL/14	0,3	*	0,7	**
CL/15	0,3	*	0,6	**
CL/16	0,3	*	0,9	**

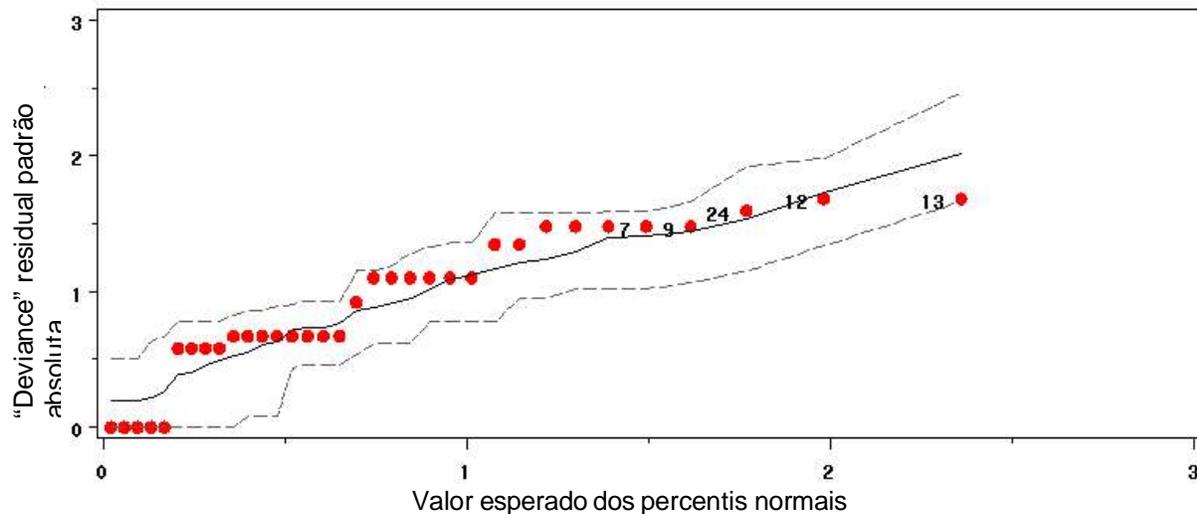
(*) Teor no solo considerado médio

(**) Teor no solo considerado suficiente

Fonte: COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC (1994)

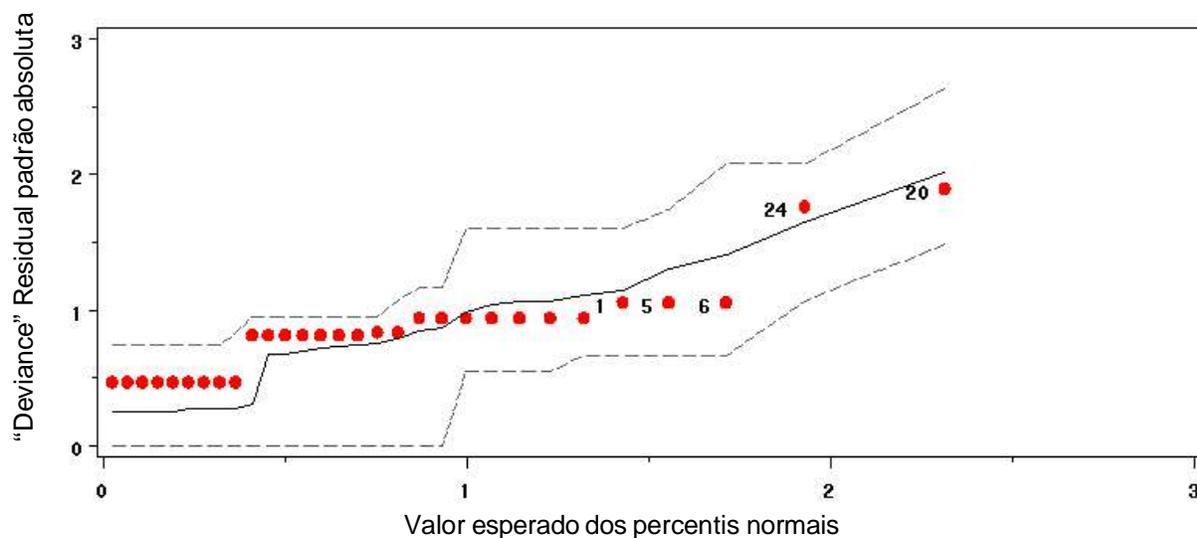
ANEXO 3

ENSAIO 1: AJUSTE DA DISTRIBUIÇÃO DE POISSON AO NÚMERO DE PLANTAS MORTAS



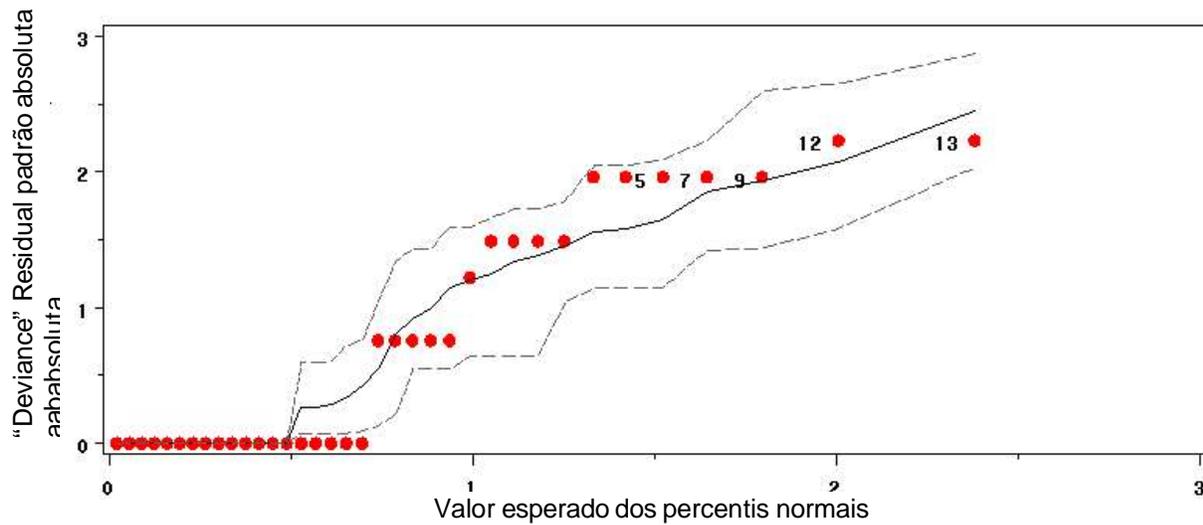
O gráfico apresentado mostra que todos os pontos estão dentro do envelope de simulação, indicando assim um bom ajuste do modelo.

ENSAIO 2: AJUSTE DA DISTRIBUIÇÃO DE POISSON AO NÚMERO DE PLANTAS MORTAS



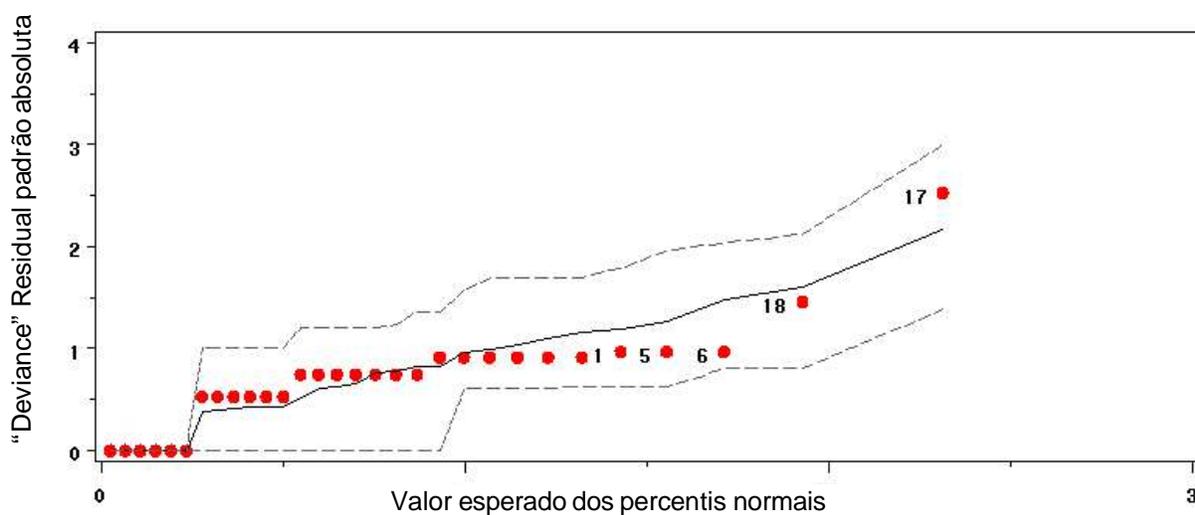
O gráfico apresentado mostra que todos os pontos estão dentro do envelope de simulação, indicando assim um bom ajuste do modelo.

ENSAIO 3: AJUSTE DA DISTRIBUIÇÃO DE POISSON AO NÚMERO DE PLANTAS MORTAS



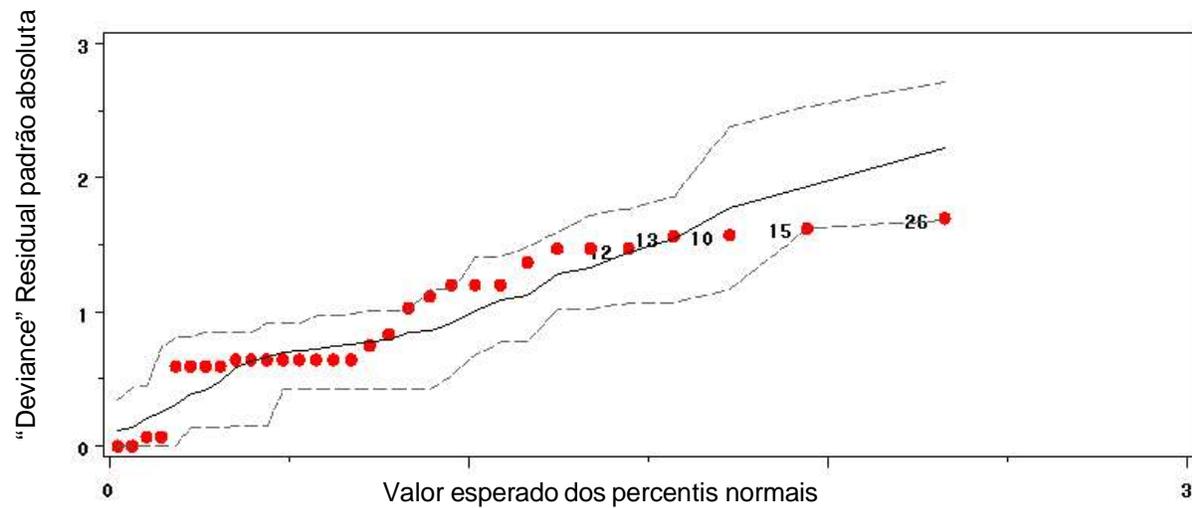
O gráfico apresentado mostra que apesar de alguns pontos estarem um pouco fora do intervalo, a maior parte dos pontos está dentro do envelope de simulação, indicando assim um bom ajuste do modelo.

ENSAIO 4: AJUSTE DA DISTRIBUIÇÃO DE POISSON AO NÚMERO DE PLANTAS MORTAS



O gráfico apresentado mostra que todos os pontos estão dentro do envelope de simulação, indicando assim um bom ajuste do modelo.

ENSAIO 5: AJUSTE DA DISTRIBUIÇÃO DE POISSON AO NÚMERO DE PLANTAS MORTAS



O gráfico apresentado mostra que todos os pontos estão dentro do envelope de simulação, indicando assim um bom ajuste do modelo.