



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PROTEÇÃO DE PLANTAS**



**ETIOLOGIA DO DAMPING-OFF NA CULTURA DO COENTRO NO MUNICÍPIO
DE ARAPIRACA-AL E EFEITO DA INTERAÇÃO DOS PATÓGENOS NA
INCIDÊNCIA DA DOENÇA**

NAYANA BRUSCHI INFANTE

Rio Largo - AL
2016

NAYANA BRUSCHI INFANTE

**ETIOLOGIA DO DAMPING-OFF NA CULTURA DO COENTRO NO MUNICÍPIO DE
ARAPIRACA-AL E EFEITO DA INTERAÇÃO DOS PATÓGENOS NA INCIDÊNCIA
DA DOENÇA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientadora: Dra: Ligia Sampaio Reis
Coorientador: Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima

Rio Largo - AL
2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- I43e Infante, Nayana Bruschi.
 Etiologia do damping-off na cultura do coentro no município de Arapiraca-AL e efeito na interação dos patógenos na incidência da doença / Nayana Bruschi Infante. – 2016.
 53 f. : il.
- Orientadora: Lígia Sampaio Reis.
 Coorientador: Gaus Silvestre de Andrade Lima.
 Dissertação (mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2016.
- Bibliografia: f. 44-53.
1. *Coriandrum sativum*. 2. Coentro – Cultura. 3. Patógenos do solo. 4. Podridão de raiz. I. Título.

CDU: 632:582.893.6

NAYANA BRUSCHI INFANTE

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. E aprovada em

Prof^a. Dra. Ligia Sampaio Reis

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz

Prof^a. Dra. Juliana Paiva Carnaúba Ramos

Rio Largo - AL
2016

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, acima de tudo, por sempre me guiar em todos os momentos da minha trajetória e por dar-me coragem para enfrentar todos os desafios;

Aos meus amados pais, Angelo Infante e Mariangela Bruschi, pelo amor incondicional, incentivo e apoio em todas as horas;

A minhas irmãs Mayara e Marcela, por serem companheiras em tudo.

A todos familiares e amigos que contribuíram para meu crescimento;

Aos professores Dra. Ligia Sampaio Reis e Drs. Gaus Silvestre de Andrade e Dra. Iraídes Pereira Assunção, pela oportunidade, confiança, orientação e ensinamentos que foram fundamentais para minha formação. Serei eternamente grata;

Ao MsC. Frederico Monteiro Feijó pela amizade, pelos ensinamentos, orientação e apoio durante toda minha trajetória no mestrado.

Aos meus amigos Mayra Machado, Ana Raphaela, Tamires Paixão, Roberto Ramos, Luan Paz e Adso Levi, pelo companheirismo no dia-a-dia, pelos momentos de alegria, aprendizado e por tornarem tudo mais prazeroso;

A todos do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal, pela amizade, ajuda mútua e ensinamentos durante todo esse período;

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas CECA-

UFAL pelos conhecimentos passados, que contribuíram para a minha formação;

A todos os meus colegas do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas do CECA-UFAL;

A CAPES pela bolsa de mestrado concedida, o que me permitiu adquirir inúmeros conhecimentos incluindo os fundamentais para a realização desse trabalho;

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

O coentro é uma cultura originária da região leste do Mediterrâneo e sul da Europa, utilizada como planta medicinal e aromática. No Brasil, o coentro tem uma grande importância econômica, gerando renda para diversas famílias, principalmente para a região Nordeste, que hoje é responsável por mais da metade da produção nacional. O cultivo de coentro é uma atividade que ainda apresenta riscos, por ser uma cultura sensível ao ataque de microrganismos causadores de doenças, principalmente os de origem fúngica. Hoje, um dos principais problemas fitossanitários para o coentro, é a ocorrência do damping-off, causando uma expressiva redução na produção, por incidir sobre os tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas, gerando necroses nas raízes, lesões encharcadas, e amarelecimento. Portanto, o objetivo do trabalho foi: identificar os agentes etiológicos responsáveis pelo “damping off” da cultura do coentro no município de Arapiraca – AL. Foram coletados solos em quatro áreas produtoras, os solos foram utilizados para o plantio do coentro em vasos com capacidade para 250 mL para visualização dos sintomas. A partir das plantas sintomáticas foram realizados isolamentos dos patógenos e respectivas identificações, através de análises moleculares com primers específicos para os genes RBP2, ITS, TEF e análises morfológicas. Foram realizados testes para avaliação das interações entre os patógenos *Fusarium*, *Pythium* e *Rhizoctonia* na porcentagem de germinação e tombamento das plântulas, e também o efeito da incorporação das plântulas de coentro infectadas incorporadas ao solo após o primeiro teste. Foram obtidos sete isolados patogênicos, pertencentes a três gêneros *Fusarium*, *Pythium* e *Rhizoctonia*. As espécies, *Fusarium inflexum*, *F. lacertarum*, *F. falciforme*, *Pythium irregulare* e *Rhizoctonia solani*, foram identificados como responsáveis pelo tombamento de plântulas de coentro na região de Arapiraca-AL. Esse é o primeiro relato de *F. inflexum*, *F. lacertarum*, *F. falciforme* e *P. irregulare* causando damping-off em plântulas de coentro no mundo e o primeiro relato de *R. solani* causando tombamento de plântulas no Brasil. As inoculações simultâneas de *F. inflexum*, *P. irregulare* e *R. solani*, aumentaram a incidência do tombamento e reduziram o estande de plântulas de coentro. A incorporação de plântulas de coentro infectadas e subsequente cultivo de coentro diminuiu a porcentagem de germinação e elevou a incidência do tombamento.

Palavras chaves: *Coriandrum sativum* ; Patógenos de solo; Podridão de raiz.

ABSTRACT

Coriander is a native culture of the eastern Mediterranean and southern Europe, it is used as a medicinal and aromatic plant. In Brazil, coriander has a great economic importance, generating income for many families, particularly for the Northeast Region, which now accounts for more than half of the national production. Coriander farming is an activity that still presents risks, for being a sensitive crop to attack disease-causing microorganisms, mainly those of fungal origin. Nowadays, one of the main phytosanitary problems for coriander is the occurrence of damping-off causing a significant reduction in production, by be levied on plant tissues young and newly planted seeds, causing necrosis in the roots, soaked lesions and yellowing. Consequently, the objective of this study was: identify the etiological agents responsible for "damping off" of Coriander culture in the city of Arapiraca - AL. Soils were collected in four producing areas, and it were used for planting coriander in pots with a capacity of 250 ml to display symptoms. From the symptomatic plants were performed isolations of pathogens and their identifications, through molecular analysis with specific primers for RBP2 genes, ITS, TEF and "Morphocultural" analysis. Tests were conducted to evaluate the interactions between pathogens *Fusarium*, *Pythium* and *Rhizoctonia* in the germination and seedling damping, as well as the effect of the incorporation of infected coriander seedlings incorporated into the soil after the first test. Seven pathogenic isolates were obtained from three genus *Fusarium*, *Pythium* and *Rhizoctonia*. The species, *Fusarium inflexum*, *F. lacertarum*, *F. falciforme*, *Pythium irregulare* and *Rhizoctonia solani*, were identified as responsible for coriander seedling damping-off in Arapiraca-AL region. This is the first report of *F. inflexum*, *F. lacertarum*, *F. falciforme* and *P. irregulare* causing damping-off in coriander seedlings in the world. This is the first report of *R. solani* causing coriander seedling damping-off in Brazil. The simultaneous inoculation *F. inflexum*, *P. irregulare* and *R. solani*, increased incidence of damping off and reduced stand coriander seedlings. The incorporation of infected coriander seedlings and subsequent coriander cultivation decreased the germination percentage and increased the incidence of tipping.

Key words: *Coriandrum sativum*; Pathogens soil; root rot.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Canteiros apresentando falhas de germinação e sintomas de tombamento da cultura do coentro no município de Arapiraca-AL (A e B).....	20
Figura 2	Plântulas com sintomas de tombamento, apresentando descoloração foliar, necrose no sistema vascular e podridão de raízes. A - <i>Pythium</i> , B - <i>Fusarium</i> e C - <i>Rhizoctonia</i>	29
Figura 3	Árvore filogenética de Inferência Bayesiana com sequências de isolados de <i>Fusarium</i> spp. considerando as regiões genômicas TEF e RPB2 de maneira concatenada.....	30
Figura 4	Árvore filogenética de Inferência Bayesiana com sequências de isolados de <i>Pythium</i> spp. e <i>Phytophthora capsici</i> considerando as regiões genômicas ITS e COX2 de maneira concatenada.....	32
Figura 5	Árvore filogenética de Inferência Bayesiana com sequências de isolados de <i>Rhizoctonia solani</i> e <i>Tulasnella pruinosa</i> considerando as regiões genômicas ITS, TEF e RPB2 de maneira concatenada.....	34
Figura 6	Características morfológicas dos isolados de <i>Fusarium</i> . (A) – macroconídios, microconídios e clamidósporos do isolado A1.11; (B) - macro e microconídios do isolado A2.2; (C) – microconídios do isolados A3.1; (D) macroconídios do isolado A3.3; (E) - macro e microconídios do isolado A4.19 e (F) – clamidósporos.....	35
Figura 7	Coloração das colônias obtidas em meio BDA dos 5 isolados obtidos do tombamento de plântulas de coentro.....	36
Figura 8	Características morfológicas do isolado A3.19 de <i>Rhizoctonia</i> . (A-B) - hifas septadas formando ângulo de 90°; (C) – escleródios.....	37
Figura 9	Coloração das colônias obtidas em meio BDA sintético do isolado A3.18 obtidos do tombamento de plântulas de coentro.....	37
Figura 10	Estruturas de propagação de <i>Pythium irregulare</i> . Esporângios (A-B); oósporos (C-D); oogônio com anterídio (E).....	38
Figura 11	Coloração das colônias obtidas em meio BDA sintético do isolado A1.8 obtido a partir do isolamento de plântulas de coentro tombadas.....	39
Figura 12	Comparação entre os experimentos 1 e 2, em relação as médias da porcentagem de germinação e tombamento de plântulas de coentro. (A) - germinação e (B) - tombamento.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Locais visitados para coleta de amostras de solos no município de Arapiraca/AL.....	20
Tabela 2	Descrição dos primers utilizados na identificação das espécies pertencentes aos gêneros <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> e <i>Fusarium</i>	24
Tabela 3	Isolados incluídos nas análises de sequências multi-gene, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank.....	25
Tabela 4	Isolados incluídos nas análises de sequências multi-gene dos isolados A1.11, A2.2, A3.1, A3.3 e A4.19, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank.....	26
Tabela 5	Isolados incluídos nas análises de sequências multi-gene do isolado A3.18, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank.....	2

Sumário

1 INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Produção de Hortaliças no Município de Arapiraca	10
2.2 Cultura do coentro (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	10
2.3 Importância econômica do coentro e principais usos	12
2.4 Aspectos fitossanitários	13
2.4.1 Damping-off	14
2.4.1.1 Gênero <i>Fusarium</i>	15
2.4.1.2 Gênero <i>Pythium</i>	16
2.4.1.3 Gênero <i>Phytophthora</i>	17
2.4.1.4 Gênero <i>Rhizoctonia</i>	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Coleta de solos, teste de tombamento e obtenção dos isolados	20
3.2 Teste de patogenicidade	21
3.2.1 Preparação do inóculo	21
3.3 Preservação dos isolados	22
3.4 Caracterização molecular	23
3.4.1 Extração de DNA	23
3.4.2 Amplificação do DNA e sequenciamento dos produtos de PCR	23
3.4.3 Análises filogenéticas	24
3.5 Caracterização morfocultural	27
3.6 Efeito da Interação entre <i>Pythium</i>, <i>Fusarium</i> e <i>Rhizoctonia</i> no damping-off na cultura do coentro	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Obtenção dos Isolados e testes de patogenicidade	29
4.2 Caracterização Molecular	30
4.2.1 Gênero <i>Fusarium</i>	30
4.2.3 Gênero <i>Rhizoctonia</i>	33
4.3 Caracterização morfocultural	34
4.3.1 Gênero <i>Fusarium</i>	34
4.3.2. Gênero <i>Rhizoctonia</i>	36
4.3.3 Gênero <i>Pythium</i>	37
4.4 Efeito da Interação entre <i>F. inflexum</i>, <i>P. irregulare</i> e <i>R. solani</i> no tombamento da cultura do coentro	39

Conclusão	43
Referências	44

1 INTRODUÇÃO

O coentro pertence à família das Apiaceae, sendo uma família com destaque, por ser uma das maiores e com maior importância econômica no mundo (SRIT *et al*, 2010, AGUIAR, 2012). *C. sativum* é originário da região leste do Mediterrâneo e sul da Europa (NADEEM *et al.*, 2013). No Brasil, o coentro tem uma grande importância econômica, gerando renda para diversas famílias e possuindo valor de mercado (JOLY, 2002). A região Nordeste se evidencia, sendo responsável por mais da metade da produção nacional, segundo o senso agropecuário nacional (IBGE, 2006).

O município de Arapiraca teve por décadas sua economia movimentada pela fumicultura, porém uma forte crise nos anos de 1980 e 1990 fez com que o monocultivo sofresse um declínio (ROMÃO, 2008), crise essa que levou a mudanças no comportamento dos agricultores, fazendo assim com que fossem buscadas outras alternativas mais rentáveis que a produção da cultura do fumo (OLIVEIRA, 2007). Atualmente, o município de Arapiraca se evidencia como um dos maiores produtores de hortaliças do estado, tendo um destaque especial para a cultura do coentro (*Coriandrum sativum* L.) (IBGE 2006; SEPLANTE, 2015).

O cultivo de hortaliças, em especial da cultura do coentro ainda hoje é uma atividade agrícola que apresenta riscos (FILGUEIRA, 2003). A cultura é sensível ao ataque de microrganismos causadores de doenças, sendo eles: bactérias, vírus, nematoides e fungos fitopatogênicos. Entre os principais problemas fitossanitários para o coentro, o damping-off ou tombamento de plântulas, é o mais importante, causando uma expressiva redução na produção.

O tombamento de plântulas ou *damping off*, é uma doença que incide sobre tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas, tem uma grande importância por estar relacionado diretamente com o estabelecimento da cultura em campo, podendo ser dividido em *damping off* de pré e de pós emergência, com sintomas variando em relação a ataque do patógeno (AMORIM, 2011). De acordo com Latorre (1990) o damping off é causado por patógenos radiculares veiculados pelo solo, sendo eles: *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* e *Rhizoctonia*.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: identificar os agentes etiológicos do “damping off” do coentro no município de Arapiraca – AL e determinar o efeito da interação entre os patógenos na incidência da doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de Hortaliças no Município de Arapiraca

O município de Arapiraca está situado na região do Agreste do estado Alagoas. Possui uma área de 410 km², uma altitude de 248 metros acima do nível do mar, suas coordenadas geográficas: latitude 09° 45' 09" e longitude 36° 39' 40" (EDUCAR/USP, 2006). Apresenta uma densidade populacional com cerca de 214.067 habitantes, sendo 32.502 residentes da região da rural (IBGE, 2010).

Sua economia por décadas foi movimentada pela fumicultura, gerando riquezas e desenvolvimento, além de conferir a esta cidade o título de “capital brasileira do fumo”. Porém entre meados dos anos de 1980 e 1990 esta monocultura sofreu um declínio em decorrência de uma demasiada oferta, da queda do preço e da tendência mundial na redução do consumo de tabaco (ARAPIRACA, 2007; ROMÃO, 2008).

Com o processo de redução da cadeia produtiva do fumo em Arapiraca, gerou-se uma perda de aproximadamente vinte mil empregos na zona rural e de oito a dez mil na indústria e comércio no espaço de cinco anos (NARDI, 2006). Essa crise, levou a mudanças no comportamento dos agricultores e das autoridades locais, fazendo com que fossem buscadas outras alternativas mais seguras e mais rentáveis que a produção fumo (OLIVEIRA, 2007).

Inicialmente, a Prefeitura e a Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf) criaram o projeto Cinturão Verde com o intuito de propor a substituição do cultivo de fumo pelo de hortaliças no segmento da agricultura familiar. O apoio inicial veio na implantação de sistemas de irrigação nas pequenas propriedades, onde foram oferecidos kits de irrigação e recursos para construção poços artesianos entre os pequenos agricultores (OLIVEIRA, 2008).

Atualmente, o município de Arapiraca tem um lugar de destaque como um dos maiores produtores de hortaliças do estado, fornecendo ainda para os mercados vizinhos de Pernambuco, Sergipe e Salvador em consequência de uma produção autossuficiente. (IBGE 2006; SEPLANTE, 2015).

2.2 Cultura do coentro (*Coriandrum sativum* L.)

A família das Apiaceae é uma das maiores e com maior importância científica e econômica no mundo, encontra-se amplamente distribuída em zonas de clima

temperado e abrange cerca de 3.800 espécies distribuídas em 455 gêneros (SRITI *et al*, 2010; AGUIAR, 2012). A classificação taxonômica das Apiáceas sofreu diversas alterações ao longo dos anos, com autores considerando diferentes características como descritores morfológicos. Uma das características que diferencia esta família é a presença de inflorescências, geralmente compostas em umbelas. Essa família é representada por plantas aromáticas com produção de diferentes compostos acumulados em canais secretores (PLUNKETT *et al*, 1996). Nessa família botânica estão incluídas seis culturas: cenouras (*Daucus carota*), mandioquinha-salsa (*Arracacia esculenta*), aipo (*Apium graveolens* var. *dulce*), salsa (*Petroselinum crispum*) e o coentro (*C. sativum* L) (FILGUEIRA, 2003).

O coentro é uma planta que se originou a partir das regiões Leste do Mediterrâneo e sul da Europa, sendo vulgarmente chamado de Coentro, Cilantro, Coentro-português, Coriandro e Erva-percevejo (NADEEM *et al.*, 2013). É uma planta herbácea, anual, que possui raiz pivotante com formato fusiforme, caule ereto de coloração verde, o qual pode vir a se tornar violeta na época da floração. Suas folhas são compostas, as flores são hermafroditas com coloração branca ou rósea e inflorescência do tipo umbela composta (DIEDERICHSEN, 1996).

A cultura é pouco exigente no que diz respeito ao solo, contudo é recomendado para cultivo, solos profundos, com boa drenagem, rico em matéria orgânica, devendo evitar solos muito ácidos (VERMA *et al.*, 2011).

Atualmente no Brasil existem em torno de 40 cultivares de coentro registradas no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), podendo ser classificadas em precoces e tardia. As variedades precoces se desenvolvem bem em clima tropical e apresentam fase vegetativa variando ente 30 e 45 dias, já as variedades tardias são mais adaptadas ao clima subtropical e temperado e apresentam a fase vegetativa de 50 a 60 dias (MARI, 2009). Dentre as cultivares, as mais utilizadas na região Nordeste são: “Tabocas” de plantas uniformes, com uma boa tolerância ao pendoamento precoce, “Tapacurá” que possui plantas de porte baixo, com talos grossos e resistentes, tem excelente rendimento por área, alta tolerância ao pendoamento precoce e com destaque a cultivar “Verdão”, que foi desenvolvida na década de 1980, resultando de um cruzamento de linhagens da variedade Palmeira durante vários ciclos. Essa cultivar possui altura média, tolerância média ao pendoamento precoce e uma certa resistência às doenças de folhagens, bastante

vigorosa, com folhas na coloração verde-escura, excelente rusticidade, sendo líder de mercado em todo o Brasil (SOUZA et al., 2005; ISLA SEMENTES, 2003)

Contudo, atualmente ainda existem poucas cultivares de coentro disponíveis aos produtores e em algumas regiões, são utilizadas cultivares locais, de origem desconhecida, cujas sementes são produzidas pelos próprios agricultores (PEREIRA et al., 2005).

2.3 Importância econômica do coentro e principais usos.

Desde seu descobrimento, as espécies de *Coriandrum* se disseminaram pelo mundo. São utilizadas como plantas aromáticas e medicinais, e por apresentarem sabor e aroma atrativos para o consumo, suas folhas são utilizadas nas cozinhas de diferentes países tais como, China, Índia, Paquistão, Estados Unidos, América Central e América do Sul (POTTER; FAGERSON, 1990; GIL et al., 2002; CARRUBA, 2009).

A Índia atualmente tem destaque como a maior produtora e consumidora de coentro do mundo, além de ser um dos maiores exportadores dessa cultura (NADEEM et al., 2013). No mundo, os maiores mercados importadores são os Estados Unidos, Oriente Médio e Sudoeste da Ásia (RAVI, 2006).

No Brasil, o coentro tem grande importância econômica, possuindo alto valor de mercado, ficando atrás apenas da alface a nível de importação e produção nacional (JOLY, 2002). Segundo o senso agropecuário nacional o país produz 108.400t de coentro, sendo a região Nordeste responsável por 85.000t da produção nacional (IBGE, 2006).

As regiões Norte e Nordeste, apresentam condições climáticas favoráveis ao cultivo da cultura durante todo o ano, por ser uma espécie adaptada ao clima quente e intolerante a baixas temperaturas. Seu cultivo e uso estão ganhando espaço e tornando-se populares em outras regiões do país (WANDERLEY JÚNIOR; MELO, 2003).

Por ser uma das olerícolas mais utilizadas nas regiões Norte e Nordeste, existem produtores de coentro que compram sementes de cultivares disponíveis no mercado, além dos que produzem sua própria semente, ou seja, reservam sempre uma área de plantio para este fim. Apesar da existência no mercado brasileiro de cultivares de coentro de boa aceitação comercial, não há um programa nacional de

avaliação de genótipos visando identificar e recomendar aqueles de melhor adaptação às diversas condições agroecológicas das zonas de cultivo (OLIVEIRA et al., 2007).

O coentro vem sendo utilizado como planta medicinal, para uma série de problemas, tais como a perda de apetite, convulsões e insônia. Além disso, esta planta é usada para curar doenças como distúrbios do aparelho digestivo, distúrbios do trato respiratório e infecções do trato urinário (DARUGHE et al., 2012; EIDI et al., 2012; SUNIL et al., 2012). Além disso o coentro é rico em vitaminas A, B1, B2 e C, sendo também fonte de cálcio e ferro (NASCIMENTO; PEREIRA, 2005).

As folhas e sementes são utilizadas na composição e decoração de diversos pratos regionais. As sementes podem ser utilizadas também na indústria, como condimento para carne defumada e na fabricação de pães e licores finos. Embora seja considerada uma cultura de fundo de quintal, um grande número de produtores está envolvido com o seu cultivo durante todo o ano, tornando-o uma cultura de grande importância social (NASCIMENTO; PEREIRA, 2005). O óleo essencial extraído das plantas de coentro tem grande importância nutricional, industrial, na produção de cosméticos e perfumaria, fazendo parte da composição de perfumes, cremes, sabonetes e farmacêutico, estando entre os 20 principais no mercado mundial (ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2010; SILVA et al., 2011). O óleo essencial apresenta ainda uma atividade antibacteriana, antifúngica e nematocida (FURLETTI et al., 2011; MICHALCZYK et al., 2012).

2.4 Aspectos fitossanitários

O cultivo do coentro assim como de outras hortaliças ainda hoje é uma atividade agrícola de grande risco, onde as plantas apresentam uma maior sensibilidade às condições climáticas e uma elevada incidência de problemas fitossanitários (FILGUEIRA, 2003).

Essa cultura é altamente sensível ao ataque de microrganismos causadores de doenças, dentre eles destacam-se bactérias, fungos, nematoides e os vírus. Trabalhos realizados em diversos países relacionam doenças que incidem sobre essa cultura, como as causadas por bactéria, *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola*, causando mancha foliar (PERNEZY, 1997; GUPTA et al., 2013) e *Xanthomonas campestris* pv. *coriandri* causando mela das folhas e caule (LEE, 2004), por vírus como *Apium-virus Y* (AVY) (TIAN, 2008), *Groundnut Ring Spot Virus* (GRSV) (LIMA

et al., 1999), por nematoides como, *Meloidogine incognita* e *Rotylenchulus reniformis* responsáveis pelo nanismo do coentro (MOURA, 2005), por *Oomicetos*, como *Pythium ultimum* causando podridão de raiz e colo (GARIBALDI, 2010), e por fungos como *Fusarium oxysporum*, causando murcha vascular (KOIKE; GORDON 2005) e *Sclerotinia sclerotiorum* causando o mofo branco (REIS; NASCIMENTO, 2011). No Brasil, poucos trabalhos estudam os aspectos fitossanitários da cultura do coentro, restringem-se, basicamente, à patologia de sementes (MAROUELLI, 2008).

Dentre os principais problemas fitossanitários para a cultura do coentro e de hortaliças de forma geral, o damping-off ou tombamento de plântulas, é considerado a doença de maior importância, causando perdas expressivas na produção.

2.4.1 Damping-off

Damping-off ou tombamento de plântulas, faz parte de um grupo de doença que incide sobre tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas, que em virtude da ação de patógenos que estão presentes no solo, leva ao apodrecimento das sementes, ocorrendo antes da germinação e após o intumescimento deste órgão. A importância dessa doença está relacionada ao fato que em decorrência da ação do patógeno ocorre uma redução do “stand” inicial de plantas no viveiro e produção de mudas ou no estabelecimento em campo. O damping-off pode ser dividida em pré emergência, quando o ataque do patógeno ocorre antes da emergência da plântula, e de pós emergência quando o ataque do patógeno ocorre após a emergência das plântulas (AMORIM 2011).

Esse grupo de doenças geralmente são favorecidas por condições ambientais de elevada umidade, plantios sucessivos e densos na mesma área, dentre outros fatores. Quando essas condições se encontram favoráveis aos patógenos e adversas às plantas, geram grandes prejuízos aos produtores (KUCHAREK, 2000; TANAKA et al., 2003).

Os sintomas variam de acordo com o estabelecimento da doença, quando se estabelece o damping off de pré emergência, ocorre o escurecimento dos tecidos, perda de rigidez e decomposição. Quando a doença evolui para os primeiros tecidos que germinam da semente, inicia-se o aparecimento de manchas encharcadas, que escurecem rapidamente, o fungo toma toda a plântula, ocorre então a destruição dos tecidos, acarretando em morte da plântula e semente. Já em pós emergência os

sintomas são observados na região do colo das plântulas (caulículo), rente ao solo, levando ao aparecimento de manchas encharcadas que com o decorrer do tempo vão evoluindo para lesões profundas, culminando com a constrição do caule, que por estar enfraquecido, leva assim ao sintoma típico da doença, o tombamento da plântula, que por sua vez será colonizada e decomposta pelo patógeno (AMORIM 2011). De acordo com Latorre (1990) essa doença é causada por patógenos veiculados pelo solo, como *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* e *Rhizoctonia*, que apresentam grande capacidade saprofítica.

2.4.1.1 Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* está inserido no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales, Família Nectriaceae, segundo dados do Index Fungorum (2013). Esse gênero é composto por aproximadamente 1500 nomes de táxons dentre as categorias de espécies, subespécies, variedades e *formae speciales*, sendo este um dos mais importantes com um grande número de espécies fúngicas que podem ser fitopatogênicas, causando assim doenças em diversas culturas de interesse agrônômico (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

É constituído por fungos mitospóricos, que possuem hifas septadas, que produzem dois tipos de esporos assexuais, macro e microconídios. Os microconídios, são ovalados em micélio aéreo, hialinos, uni ou bicelulares, com formato cilíndrico a oval, formados em grande quantidade. Os macroconídios são produzidos em esporodóquios, as quais são estruturas de frutificação do fungo, são multiseptados, fusiforme, falcados e são em média quatro vezes maior que os microconídios. A produção de macro e micronídios é variável, e em função das condições do ambiente e espécies. Algumas espécies produzem clamidósporos, estruturas essas que são capazes de permanecerem inativas por um longo período de tempo, mantendo a sobrevivência do patógeno no solo até que as condições de infecções sejam favoráveis a estes (WINDELS, 1992; MILANESI, 2009).

A caracterização e identificação das espécies de *Fusarium* são baseadas na observação da morfologia de estruturas reprodutivas, e características fisiológicas (NELSON et al., 1983; LESLIE; SUMMERELL, 2006). Porém, somente as características morfológicas não são suficientes para identificação de espécies, por isso, se faz necessário a utilização de técnicas moleculares para a correta

identificação, através de primers para regiões específicas como: RNA polimerase subunidade II (RPB2), Fator de alongação (TEF) e espaço interno transcrito (ITS) (LESLIE; SUMMERELL, 2006; O'DONNELL et al. 2010).

Os sintomas de tombamento causados por *Fusarium* spp. são podridões de colo e lesões no caule, que se localizam tanto abaixo como acima da superfície do solo. As lesões são deprimidas, com coloração marrom, que se desenvolvem e acarretam no enfraquecimento da região atacada, deixando a planta predisposta ao tombamento, geralmente ocorrendo em reboleira (AMORIM, 2011).

2.4.1.2 Gênero *Pythium*

O gênero *Pythium* foi descrito em 1858, pertence ao reino Chromista filo Oomycota, classe Oomycetes, ordem Pythiales e a família Pythiaceae, (CABI BIOSCIENCE, 2004)

A reprodução assexuada em espécies de *Pythium* spp. ocorre por meio da formação de esporângios, com formato que varia de lobulado a globoso, estes formam por sua vez as vesículas de parede delicada e fina, no interior das quais diferenciam-se esporangiósporos biflagelados, denominados zoósporos, nas extremidades das hifas (VAN DER PLAATS-NITERINK, 1981). Os zoósporos, que são os esporos assexuados, são os agentes de dispersão dos oomicetos em meio aquoso e em condições de alta umidade, através da presença de dois flagelos, que após algum tempo perdem a motilidade, adquirindo assim um formato circular (HARDHAM, 2007; VAN DER PLAATS-NITERINK, 1981).

A reprodução sexual desse gênero ocorre por meio do contato dos órgãos sexuais o oogônio (gametângio masculino) e o anterídio (gametângio feminino), levando a formação de um tubo de fertilização, que penetra através da parede do oogônio, fazendo com que ocorra a passagem do material nuclear para o gametângio feminino, resultando na formação do oósporo, o qual é caracterizado por uma parede espessa externa. Os oósporos são formados no interior do tecido infectado do hospedeiro e são as estruturas de sobrevivência do patógeno em condições adversas. Quando as condições ambientais são propícias, e na presença de um hospedeiro suscetível, o oósporo germina e da origem a uma nova hifa ou vesícula (HENDRIX; CAMPBELL, 1973)

As espécies desse gênero podem sobreviver como saprófitas ou parasitas (HENDRIX; CAMPBELL, 1973). Os zoósporos, oósporos e fragmentos de hifa podem atuar como fontes de inóculo, sendo os zoósporos os principais agentes de disseminação do patógeno (KUCHAREK; MITCHEL, 2000).

A colonização do tecido do hospedeiro se dá pela liberação de enzimas pectolíticas e celulolíticas, as quais levam à desintegração do tecido vegetal. As raízes infectadas apresentam podridões moles e encharcadas, normalmente na região do colo. Tecidos jovens são mais propensos à infecção pelo patógeno (VAN DER PLAATS-NITERINK, 1981).

A descrição de espécies do gênero *Pythium* é um processo criterioso, que envolve não somente estudos morfológico detalhados, como a utilização de técnicas moleculares através que se baseiam em regiões genômicas específicas, para confirmar a identificação das espécies (WANG; WANG; WHITE, 2003; LEVESQUE; DE COCK, 2004).

2.4.1.3 Gênero *Phytophthora*

As espécies de *Phytophthora* segundo Index Fungorum (2006) encontram-se associadas às seguintes categorias taxonômicas: Família Pythiaceae, Ordem Pythiales, Classe Oomycetes, Filo Oomycota, Reino Chromista ou Straminipila, neste mesmo banco de dados existem cerca de 131 espécies de *Phytophthora* registradas.

O atual sistema de classificação do gênero *Phytophthora* classifica as espécies com base em diferentes características morfológicas, sendo elas: formação de papila, forma de agregação do anterídio, heterotalismo e homotalismo, esporulação em diferentes meios de cultura, aspectos biológicos como especificidade a hospedeiros e também conta com alguns caracteres fisiológicos como taxa de crescimento micelial (RIBEIRO, 1978; STAMPS *et al.*, 1990; WATERHOUSE *et al.*, 1983).

No Brasil, o gênero *Phytophthora* causa danos em culturas economicamente relevantes, destacando-se dentre elas: *P. infestans* (requeima do tomateiro e da batata); *P. cinnamomi* (podridão de raízes de abacateiro); *P. palmivora* (podridão de raízes e frutos de mamoeiro, podridão parda do cacauzeiro, podridão do pé da pimentado-reino, gomose dos citrus, além de outras doenças em numerosos outros hospedeiros); *P. capsici* (podridão das raízes, caule, folhas e frutos de solanáceas e de cucurbitáceas) (LUZ; MATSUOKA, 1996).

Os sintomas podem ser verificados em pré e pós-emergência. Em pré emergência caracteriza-se pelo escurecimento dos tecidos e perda de rigidez, levando a uma decomposição. Pode ser observado o aparecimento de manchas encharcadas, que rapidamente aumentam de tamanho e escurecem, em pós emergência. O patógeno rapidamente toma conta de toda a plântula jovem, ocasionando o tombamento e levando-a à morte. A evidência em campo pode ser notada pela redução no stand, que em alguns casos, é atribuída à má germinação da semente. Os sintomas são visualizados também em reboleiras, em função de uma maior presença do patógeno (AMORIM, 2011).

A caracterização de espécies de *Phytophthora* é realizada não somente baseada em características morfológicas, são utilizadas técnicas moleculares para auxiliarem esse processo, através de regiões genômicas específicas (ROSA, 2006).

2.4.1.4 Gênero *Rhizoctonia*

O gênero *Rhizoctonia* spp. é um grande, diversificado e complexo grupo de fungos, considerado um parasita primitivo e não específico, comumente presente no solo. Espécies desse gênero não produzem esporos durante a fase vegetativa, apresentam um micélio estéril que não forma esporo assexuado. São utilizados para subdivisão do gênero, características como: patogenicidade, morfologia e coloração da colônia, e diâmetro da hifa (CARLING; SUMNER, 1992). A filogenia é baseada nas sequências da região espaçadora interna (ITS), fator de alongação (TEF) e Subunidade II da RNA polimerase (RPB2) (OGOSHI, 1987; LIU; SINCLAIR, 1993).

A fase perfeita de *R. solani* compreende o basidiomiceto *Thanatephorus cucumeris* (CUBETA; VILGALYS, 1997), o qual apresenta uma hifa dicariótica, que origina um basídio, seguido de cariogamia e meiose. O basídio vai se desenvolver e dar origem a quatro basidiósporos ovalados que quando liberados irão germinar, dando origem a uma hifa dicariótica.

Rhizoctonia spp. por ser um fungo não específico pode acarretar consideráveis perdas a diferentes culturas comerciais de importância econômica no mundo todo (MICHEREFF et al., 2005). No Brasil o gênero já foi relatado em diferentes culturas como: hortaliças (BOLKAN; RIBEIRO, 1985; KURAMAE et al., 2003), seringueira (CAMPACI; FIGUEIREDO, 1964), soja (FENILLE et al., 2003), amendoineiro e

feijoeiro (CERESINI et al., 1996; CERESINI; SOUZA, 1997), eucalipto (SILVEIRA et al., 2000) e cafeeiro (SUSSEL et al., 2001).

Espécies de *Rhizoctonia* spp. podem infectar tanto plantas jovens como plantas adultas, principalmente órgãos em contato com o solo (BAKER, 1970). Quando ocorre a podridão de plântulas em pré emergência, confunde-se com má germinação de sementes, devido á redução do estande, o patógeno infecta a radícula e o caulículo antes da germinação, pode ocorrer também a podridão de sementes devido ao seu encharcamento e deformação. Em pós emergência o sintoma é caracterizado pelo estrangulamento, encharcamento e necrose do caule, acarretando em tombamento e murcha da plântula (MATSUOKA et. al., 1985).

A severidade dessa doença está associada à quantidade de inóculo inicial. Em geral, o patógeno é favorecido por temperaturas acima de 25°C, alta umidade relativa do ar e do solo, solos mal drenados, irrigações excessivas, semeaduras densas, adubação nitrogenada em excesso, elevado teor de matéria orgânica, cultivos sucessivos no mesmo local e pH ácido do solo. Solos secos ou muito encharcados são desfavoráveis para o patógeno (LEACH; GARBER, 1970) (SNEH et. al., 1996).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no período de maio de 2015 a julho de 2016 no Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas localizado no km 85 da BR 104 Norte (9°27'54.71"S – 35°49'39.27"O), no Município de Rio Largo-AL.

3.1 Coleta de solos, teste de tombamento e obtenção dos isolados

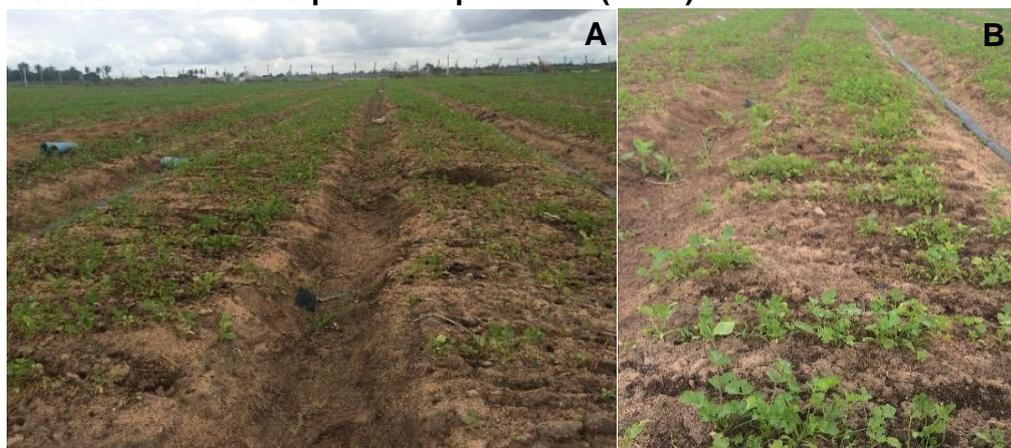
Para a obtenção dos isolados, foram realizadas coletas de amostras de solo compostas em uma profundidade de 10-20 cm, em quatro áreas produtoras no município de Arapiraca-AL (Tabela 1) onde a cultura do coentro apresentava sintomas de tombamento (Figura 1).

Tabela 1 - Locais visitados para coleta de solos no município de Arapiraca/AL.

Locais de Coleta	Código	Localização	
		N	W
Comunidade Cangandu	A1	-9°47'16.63"	36°33'59.57"
Sítio Pelé Velho	A2	- 9°48'5.34"	-36°33'35.82"
Sítio Bálsamo	A3	- 9°49'32.53"	-36°36'2.68"
Batingas	A4	-9°47'48.34"	-36°37'11.81"

Fonte: Autor, 2016

Figura 1 - Canteiros apresentando falhas de germinação e sintomas de tombamento da cultura do coentro no município de Arapiraca-AL (A e B).



Fonte: Autor, 2015

As amostras coletadas foram conduzidas ao laboratório, acondicionadas em vasos com capacidade para 11L. Posteriormente, os solos foram distribuídos em

vasos de 250 mL para avaliação da porcentagem de tombamento e germinação das sementes de coentro. Em cada vaso foram plantadas seis sementes da cultivar Verdão. Foram utilizadas trinta repetições por área e o delineamento foi inteiramente casualizado (DIC). As plântulas que apresentaram sintomas típicos de tombamento foram utilizadas para a realização de isolamento indireto retirando-se quatro fragmentos de cada raiz infectada. Em seguida, realizou-se desinfestação superficial em cabine de fluxo laminar, na seguinte sequência: álcool a 70% (30 segundos), hipoclorito de sódio a 1% (1 minuto) e duas lavagens em água destilada esterilizada (ADE), utilizou-se papel de filtro esterilizado para retirar a umidade e, então, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). As placas contendo os tecidos foram mantidas em temperatura ambiente, em torno de 25°C, durante três dias. Após o crescimento das colônias, foram retirados discos (5 mm) e transferidos para novas placas de Petri contendo meio de cultura BDA. As culturas obtidas foram mantidas em temperatura ambiente por aproximadamente sete dias, ou até o surgimento das estruturas de reprodução do patógeno.

3.2 Teste de patogenicidade

Para realização do teste de patogenicidade foram utilizadas bandejas plásticas com capacidade para 3 kg, onde nas mesmas foram depositados 2 kg de solo autoclavado. Cada bandeja comportou três fileiras com dez plantas cada, sendo utilizada uma bandeja por isolado. Os isolados obtidos foram identificados preliminarmente baseados nas características morfológicas, através de visualizações em microscópio óptico. Em seguida, o inóculo de cada patógeno foi preparado e incorporado ao solo.

3.2.1 Preparação do inóculo

O inóculo do isolado A1.8, caracterizado como *Pythium* sp., foi preparado utilizando duas placas contendo crescimento do patógeno em meio de cultura BDA com dez dias de crescimento, em seguida foram adicionados 20 ml de água destilada esterilizada nas placas, posteriormente foi realizada a raspagem com uma escova de

cerdas macias. Em seguida, foram adicionados 40mL da suspensão de micélio obtida por kg de solo, e posteriormente realizou-se o plantio do coentro da variedade verdão.

O inóculo do isolado A3.18, (*Rhizoctonia* sp.) foi preparado utilizando-se erlenmeyers com capacidade para 250 mL, onde foram adicionados 50g de arroz parboilizado e 150 mL de água destilada. Após a esterilização em autoclave (120°C, 1atm, 30 min) e resfriamento, em cada frasco foram depositados três discos de cultura de *Rhizoctonia* em meio BDA com sete dias de crescimento. Os substratos foram incubados durante 10 dias com luminosidade e temperatura controladas em BOD, e depois o substrato colonizado pelo patógeno foi retirado e acondicionado em sacos de papel, para secagem por 72 horas nas mesmas condições ambientais. Posteriormente, o substrato foi triturado em liquidificador durante 5 minutos, peneirado em 16 mesh, sendo adicionado 1g do inóculo para cada kg de solo e logo após procedeu-se o plantio (BARBOSA et al., 1995).

O inóculo dos isolados A1.11, A2.2, A3.1, A3.3 e A4.19, todos pertencentes ao gênero *Fusarium* foram preparados em erlenmeyers com capacidade de 500 mL, onde foi adicionado o substrato constituído da mistura de areia lavada peneirada, farinha de milho e água destilada (AMA) (NEME; HAWARE, 1980) (na proporção de 9:1:2 em peso (150g areia: 17g de farinha de milho: 34mL de água) e posteriormente foram submetidos à esterilização em autoclave. (120°C, 1atm, 60 min, dois dias consecutivos) e resfriamento em condições ambientes. Ao substrato esterilizado, foram adicionados dez discos do meio de cultura BDA de 5mm de diâmetro contendo micélio do isolado de *Fusarium*, tomados da margem, de uma colônia em crescimento. A mistura infestada foi incubada à uma temperatura de 25° e fotoperíodo de 12h, onde, os fracos foram agitados a cada dois dias. Aos vinte e um dias de incubação, o substrato foi misturado ao solo autoclavado na proporção de 10g de substrato colonizado por kg de solo. Posteriormente, o solo ficou em repouso por doze dias até a realização do plantio (MAYA, 2002).

As plantas que apresentaram sintomas de damping off foram utilizadas para o reisolamento dos patógenos e posterior identificação.

3.3 Preservação dos isolados

Para preservação dos isolados foram utilizados três métodos, no primeiro os isolados foram preservados em água destilada autoclavada (método de Castellani);

no segundo, os isolados foram preservados em tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, onde depositou-se um disco de meio contendo estruturas do fungo sobre a superfície do meio de cultura, e o terceiro método utilizando foi o armazenamento de discos contendo estruturas do fungo em tubos de microcentrífuga (2,0 mL), sendo depositados seis discos/tubo.

3.4 Caracterização molecular

3.4.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada segundo protocolo CTAB adaptado de Doyle; Doyle (1987), onde o micélio dos isolados crescidos em meio líquido de Asparagina durante cinco dias foi lavado com ADE e em seguida, macerado com nitrogênio líquido em almofariz de porcelana com auxílio de um pistilo. Em seguida adicionou-se 2000 μ L de tampão de extração CTAB 4% (CTAB 4%, NaCl 1,4/M, EDTA 20/mM, Tris-HCl 100 mM, PVP 1%) e 4 μ L de β -mercaptoetanol, onde apenas 500 μ L do micélio macerado foi transferido para tubos de micro centrífuga com capacidade de 1,5 mL. Os tubos foram mantidos em banho maria a 65°C por 30 minutos.

Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 12.000rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo onde foi adicionado 600 μ L de CIA (clorofórmio: álcool isso- amílico - 24:1). Após centrifugação, a fase aquosa foi transferida para um novo tubo e foi acrescentando 400 μ L de isopropanol, as amostras foram acondicionadas a -20 °C por no mínimo 30 minutos. As amostras foram centrifugadas a 12.000rpm por 5 minutos. Após a centrifugação a fase líquida foi descartada e o DNA precipitado foi lavado com etanol 70% e seco em temperatura ambiente e, em seguida, ressuspendido com 40 μ L de TE (Tris- HCl 10 mM, EDTA 1 mM) (10mL) + RNase (50 μ L), na proporção de 1:49. O DNA obtido foi armazenado sob temperatura de -20°C até sua utilização para amplificação.

3.4.2 Amplificação do DNA e sequenciamento dos produtos de PCR

O DNA dos isolados obtidos foi utilizado como molde em reações de amplificação contendo primers específicos para a região ITS do DNA ribossomal, para confirmação dos gêneros identificados. Posteriormente, para a identificação das espécies foram utilizados os primers específicos para diferentes os genes, conforme (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição dos primers utilizados na identificação das espécies pertencentes aos gêneros *Rhizoctonia*, *Pythium* e *Fusarium*.

Isolado	Gene	Primer	Sequencia (5'-3')	Referências
<i>Rhizoctonia</i>	ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White et al., 1990
		ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
	RPB2	6F	TGGGGYATGGNTTGYCCYGC	Liu et al. 1999
		7.1R	CCCATRGCYTGYTTMCCCAT	
	EF-1 α	TEF1-F	AATCGTCAAGGAGACCAACG	O'Donnell et al. 2001
		TEF1-R	CGTCACCAGACTTGACGAAC	
<i>Pythium</i>	COX2	COX2F	GGCAAATGGGTTTTCAAGATCC	Hudspeth et al. 2000
		COX2R	CCATGATTAATACCACAATTCACTAC	
	ITS	ALB LRO	GCTTAAGTTCAGCGGGT	Cooke et al., 2000
		DC6	GAGGGACTTTTGGGTAATCA	Moncalvo et al., 1995
<i>Fusarium</i>	TEF	EF1	ATGGGTAAGGARGACAAGAC	O'Donnell et al. 1998
		EF2	GGARGTACCAGTSATCATG	
	ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White et al., 1990
		ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
	RPB2	5F2	GGGGNGAWCAGAAGAAGGC	Reeb et al. 2004
		7CR	CCCATRGCTTGYTTRCCCAT	

Fonte: Autor, 2016

As reações de PCR foram realizadas com tampão 10X, MgCl₂ 50 mM, DNTP's 10 mM, 10 μ M de cada oligonucleotídeo, 1U de Taq DNA Polimerase e 1 μ L de DNA diluído (1:20). O volume final das reações foi ajustado para 30 μ L com água Milli-Q autoclavada. As reações de PCR foram realizadas em termociclador Applied Biosystems (2720 Thermal Cycler). As condições de ciclo para a região ITS foram: desnaturação inicial de 95°C por 2 minutos e 38 ciclos de 95°C por 1 minuto, 55°C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos e um ciclo final de 10 minutos por 72°C. Para a região COX 2, foi utilizado um ciclo de: 96 °C por 4 minutos, 24 ciclos de 96° C por 30 segundos; 50° por 30 segundos, 72° C por 1 minuto e um ciclo final de 72° C por 4 minutos. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,2 % e corado com brometo de etídio, com posterior visualização realizada em um transluminador. Em seguida, o produto de PCR foi enviado para purificação e sequenciamento com os mesmos *primers* utilizados na amplificação.

3.4.3 Análises filogenéticas

As sequências de nucleotídeos foram montadas com o software Codon Code Aligner v. 4.1.1 (www.codoncode.com) (Codon Code Corporation, Dedham,

Massachusetts, USA), e analisadas visualmente. O arranjo dos nucleotídeos em posições ambíguas, foram corrigidos por comparação das sequências senso e anti-senso. Sequências parciais obtidas para o gene ITS foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1990) e o banco de dados de nucleotídeos não-redundante GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank), e também comparadas com sequências no banco de dados Q-Bank Fungi para determinar as espécies fúngicas com as quais elas compartilharam maior identidade de sequência.

Para identificação preliminar dos isolados, foi construída uma árvore filogenética bayesiana com as sequências parciais do gene ITS. Para posicionamento taxonômico definitivo, um subgrupo de isolados foi escolhido para obtenção de sequências adicionais com os genes COX2, RPB2, EF-1 α . Foram então obtidas filogenias para os dados concatenados das sequências parciais dos genes COX2, RPB2, EF-1 α e ITS do subgrupo dos isolados obtidos neste trabalho e sequências disponíveis no GenBank (Tabela 3).

Tabela 3 - Isolados incluídos nas análises de sequências multi-gene do isolado A1.8, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank.

Espécies	Nº acesso da cultura	Nº de acesso no GenBank	
		ITS	COX2
<i>Pythium</i> sp.	CBS 113341	KF853244	KJ595414
<i>P. attrantheridium</i>	DAOM 230386	HQ643476	AB512889
<i>P. recalitrans</i>	CBS 122440	DQ357833	KJ595423
<i>P. spinosum</i>	CBS 275.67	AY598701	KJ595366
<i>P. kunmingense</i>	CBS 550.88	AY598700	KJ595389
<i>P. intermedium</i>	CBS 266.38	AY598647	AB507410
<i>P. sylvaticum</i>	CBS 453.67	AY598645	KJ595383
<i>P. debaryanum</i>	CBS 752.96	AY598704	KJ595399
<i>P. viniferum</i>	CBS 119168	HQ643956	KJ595419
<i>P. lucens</i>	CBS 113342	HQ643681	KJ595415
<i>P. violae</i>	CBS 132.37	AY598717	KJ595345
<i>P. abappressorium</i>	CBS 110198	HQ643408	KJ595409
<i>P. macrosporum</i>	CBS 574.80	AY598646	AB512916
<i>P. emineosum</i>	CBS 124057	GQ244427	KJ595432
<i>P. spiculum</i>	CBS 122645	KF853242	KJ595425
<i>P. mamillatum</i>	CBS 251.28	AY598703	AB362325
<i>P. paroecandrum</i>	CBS 157.64	AY598644	DQ071391
<i>P. cylindrosporum</i>	CBS 218.94	AY598643	GU071762
<i>P. cryptoirregulare</i>	CBS 118731	HQ643515	GU071763
<i>P. irregulare</i>	CBS 250.28	AY598702	GU071760
<i>Phytophthora capsici</i>	P1319	FJ801727	GU221958

Autor, 2016.

Tabela 4 - Isolados incluídos nas análises de sequências multi-gene dos isolados A1.11, A2.2, A3.1, A3.3 e A4.19, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank.

Espécies	Nº acesso da cultura	Nº de acesso no GenBank	
		RPB2	TEF
<i>Fusarium falciforme</i>	CBS 132905	KF255530	KF255491
<i>F. falciforme</i>	NRRL 43529	JX171653	EF452965
<i>F. solani</i>	951071	.	.
<i>F. solani</i>	SVY2151	.	.
<i>F. phaseoli</i>	NRRL 22276	JX171608	EF408415
<i>F. virguliforme</i>	NRRL 22825	EU329533	AF178357
<i>F. ambrosium</i>	NRRL 20438	JX171584	AF178332
<i>F. lacertarum</i>	NRRL 52753	JF741154	JF740828
<i>F. lacertarum</i>	NRRL 20423	JX171581	GQ505593
<i>F. equiseti</i>	NRRL 20697	JX171595	GQ505594
<i>F. equiseti</i>	NRRL 13402	JX171566	GQ505592
<i>F. inflexum</i>	NRRL 20433	JX171583	AF008479
<i>F. oysporum</i>	NRRL 25378	HM347208	HM347116
<i>F. oysporum</i>	NRRL 54984	KC808364	KC808225
<i>F. dimerum</i>	NRRL 36140	HM347218	HM347133

Tabela 5 - Isolados incluídos nas análises de sequências multi-gene do isolado A3.18, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank

Espécies	Nº acesso da cultura	Nº de acesso no GenBank	
		RPB2	TEF
<i>Rhizoctonia solani</i>	CBS 206.84	DQ301747	DQ301680
<i>R solani</i>	CBS 140.82	DQ301730	DQ301677
<i>R solani</i>	CBS 207.84	DQ301748	DQ301681
<i>R solani</i>	SJ07	DQ301755	DQ301755
<i>R solani</i>	SA1-1	DQ301734	DQ301666
<i>R solani</i>	CBS 208.84	DQ301749	DQ301682
<i>R solani</i>	Rhs1AP*	DQ301735	DQ301667
<i>R solani</i>	SJ02	DQ301754	DQ301688
<i>R solani</i>	Rh-165	DQ301737	DQ301669
<i>R solani</i>	GM 10	DQ301739	DQ301671
<i>R solani</i>	OHT-1-1	DQ301740	DQ301672
<i>R solani</i>	76Rs	DQ301741	DQ301673
<i>R solani</i>	CBS 101782	DQ301744	DQ301676
<i>R solani</i>	S-21	DQ301742	DQ301674
<i>R solani</i>	CBS 346.84	DQ301750	DQ301684
<i>R solani</i>	CBS 293.31	DQ301729	DQ301683
<i>Tulasnella pruinosa</i>	AFTOL	DQ381839	DQ061274

Fonte: autor, 2016

3.5 Caracterização morfocultural

A caracterização morfológica dos isolados baseou-se no tamanho e forma de 50 conídios e estruturas de reprodução de cada gênero fúngico obtido, sendo observados com auxílio de microscópio óptico, com um aumento de 40x. Para visualização das estruturas, os isolados foram mantidos em meio de cultura BDA à temperatura de 25 ± 1 °C por 10 dias e fotoperíodo de doze horas. Para a obtenção das estruturas de frutificação foi utilizando o método de microcultura em ágar-água para cada gênero. Posteriormente foram capturadas imagens das características morfológicas de cada isolado. As imagens foram projetadas em monitor através do software Cell senses Standard, para em seguida serem realizadas medições das estruturas identificadas.

Para caracterização cultural, discos de BDA (5mm) contendo o micélio do patógeno foram retirados da borda da colônia cultivada por sete dias. Estes foram transferidos, individualmente, para o centro de placas de Petri contendo meio BDA sintético. Os tratamentos foram mantidos em estufa incubadora BOD a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de doze horas, dispostas em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri. Foram realizadas avaliações diárias do crescimento micelial das colônias (mm) em duas direções opostas no fundo externo das placas, com auxílio de um paquímetro digital, durante sete dias. Também foram observadas as colorações das colônias e o aspecto do micélio aéreo.

As médias obtidas das mensurações foram utilizados para calcular o índice de crescimento micelial – ICM (mm/dia) pela seguinte fórmula:

$$\text{ICM} = \frac{C1}{N1} + \frac{C2}{N2} \dots + \frac{Cn}{Nn}$$

Onde:

ICM= índice de crescimento micelial

C1= crescimento micelial no primeiro dia

N= número de dias

3.6 Efeito da Interação entre *Pythium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia* no damping-off na cultura do coentro.

Foram realizados dois experimentos para analisar o efeito da interação entre patógenos. No primeiro experimento, utilizou-se bandejas plásticas com capacidade para 600g de solo, onde foram depositados 500g de solo autoclavado por repetição. Os inóculos dos patógenos foram produzidos conforme o item 3.2.1.

Os tratamentos consistiram de inoculações com patógenos individuais, bem como a interação entre eles, da seguinte forma: *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* + *Fusarium*, *Pythium* + *Rhizoctonia*, *Fusarium* + *Rhizoctonia*, *Pythium* + *Rhizoctonia* + *Fusarium* e testemunha sem patógeno. Os isolados utilizados neste experimento foram: A1.18, A2.2 e A3.18 de *Pythium*, *Fusarium* e *Rhizoctonia*, respectivamente. Cada tratamento foi constituído de três repetições, sendo cada repetição representada por 20 sementes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com oito tratamentos, incluindo a testemunha.

Foram analisadas as porcentagens de tombamento e germinação nas interações entre os patógenos, e a ação individual de cada um deles durante quatorze dias. Também foram realizados reisolamentos para identificação dos microrganismos que causaram tombamento em cada tratamento. O segundo experimento foi montado após o término do primeiro, onde os restos vegetais de cada tratamento foram incorporados e deixados em repouso durante quinze dias. Em seguida realizou-se o plantio de vinte sementes de coentro por repetição e foram avaliadas a porcentagem de germinação e tombamento, bem como o isolamento para identificação dos microrganismos que causaram tombamento.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott em nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa ASSISTAT 7.6 beta desenvolvido por Santos e Silva (2013).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção dos Isolados e testes de patogenicidade

A partir dos isolamentos realizados em plântulas com sintomas de tombamento, foram obtidos sete isolados, sendo cinco pertencentes ao gênero *Fusarium* (A1.11, A2.2, A3.1, A3.3 A4.19), um ao gênero *Rhizoctonia* (A3.18), e um pertencente ao gênero *Pythium* (A1.8).

Todos os isolados apresentaram patogenicidade, causando sintomas a partir do décimo dia após o plantio, quando foram observados sintomas distintos, de acordo com o patógeno inoculado (Figura 2).

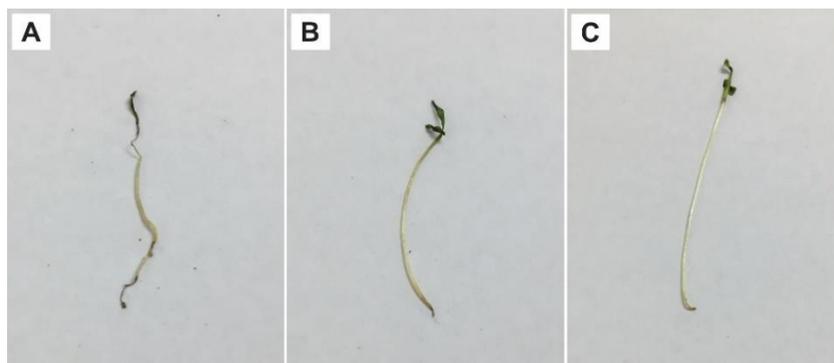
As plântulas infectadas por *Pythium*, apresentaram clorose foliar e lesões encharcadas na base do caule e podridão de raízes (Figura 2A). Estes mesmos sintomas foram descritos por Garibaldi et al., (2010), em experimentos realizados na Itália em cultivos de coentro.

Nas plântulas infectadas por *Fusarium*, pode ser observado clorose foliar, necrose do tecido vascular e podridão de raízes (Figura 2B). Estévez de Jensen (2009), descreveu sintomas semelhantes a estes como clorose foliar, nanismo, necrose do tecido vascular e podridão de raízes e da coroa, em cultivos hidropônicos de coentro em Porto Rico.

No teste com *Rhizoctonia*, as plântulas apresentaram, folhas cloróticas, tecido vascular necrosado e podridão de raízes (Figura 2C), sintomas estes também observados por Madia, M. et al., (1995) em estudo sobre podridão basal causada por *Rhizoctonia solani* em coentro.

Todas as plantas inoculadas tiveram os respectivos patógenos confirmados após o reisolamento.

Figura 2 – Plântulas com sintomas de tombamento, apresentando descoloração foliar, necrose no sistema vascular e podridão de raízes. A - *Pythium*, B - *Fusarium* e C - *Rhizoctonia*.



Fonte: Autor, 2016

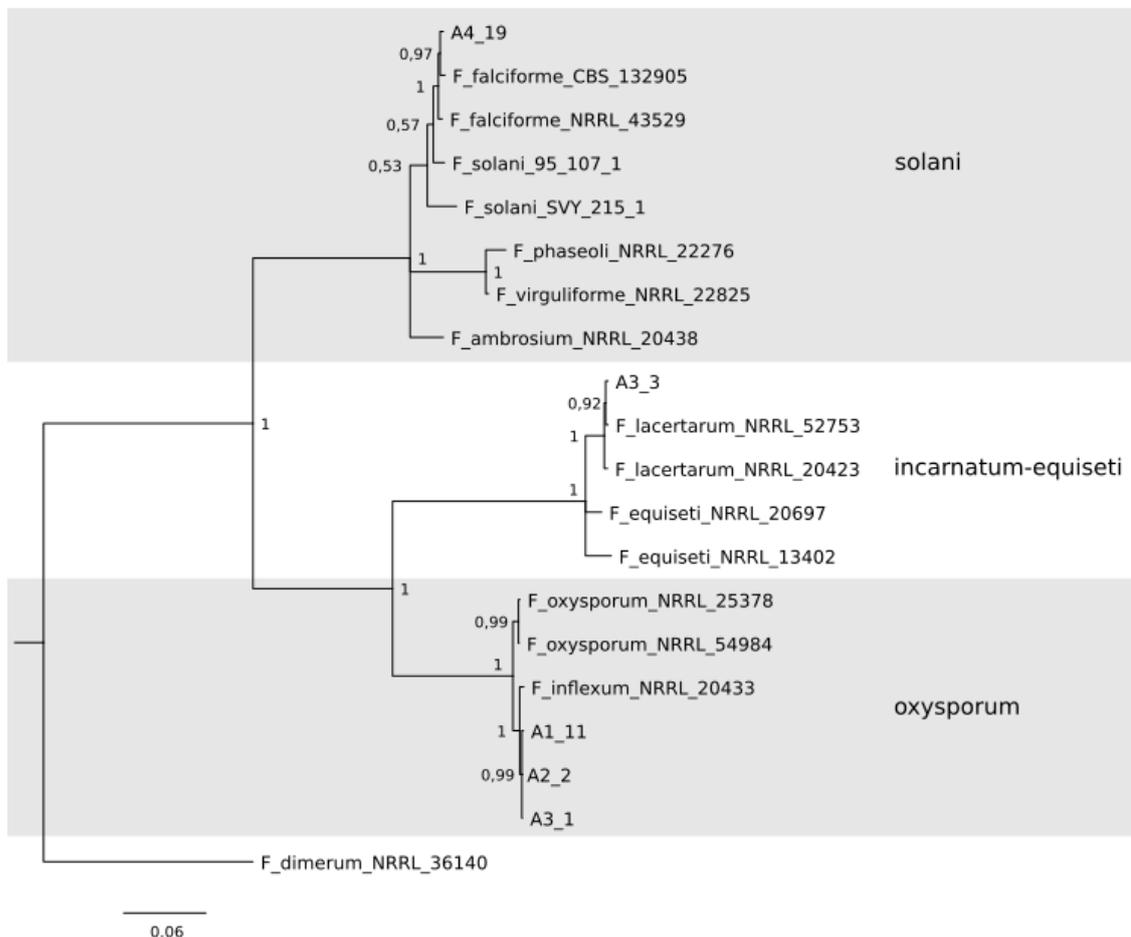
4.2 Caracterização Molecular

4.2.1 Gênero *Fusarium*

As amplificações utilizando-se os primers EF1R/EF1R e 5F2/7CR geraram fragmentos com aproximadamente 700 e 990pb, para os genes TEF e RPB2 respectivamente.

As sequências obtidas foram concatenadas e utilizadas para construção de uma árvore filogenética que permitiu a identificação do isolado A4.19 como *F. falciforme* pertencente ao complexo solani, o isolado A3.3 como *F. lacertarum* pertencente ao complexo incarnatum-equiseti e os isolados A1.11, A2.2, A3.1 como *F. inflexum* pertencentes ao complexo oxysporum (Figura 3). A comparação das sequências obtidas com aquelas depositadas no NCBI, utilizando a ferramenta BLAST, revelou identidades variando de 99 e 100% para as respectivas espécies.

Figura 3 - Árvore filogenética de Inferência Bayesiana com sequências de isolados de *Fusarium* spp. considerando as regiões genômicas TEF e RPB2 de maneira concatenada.



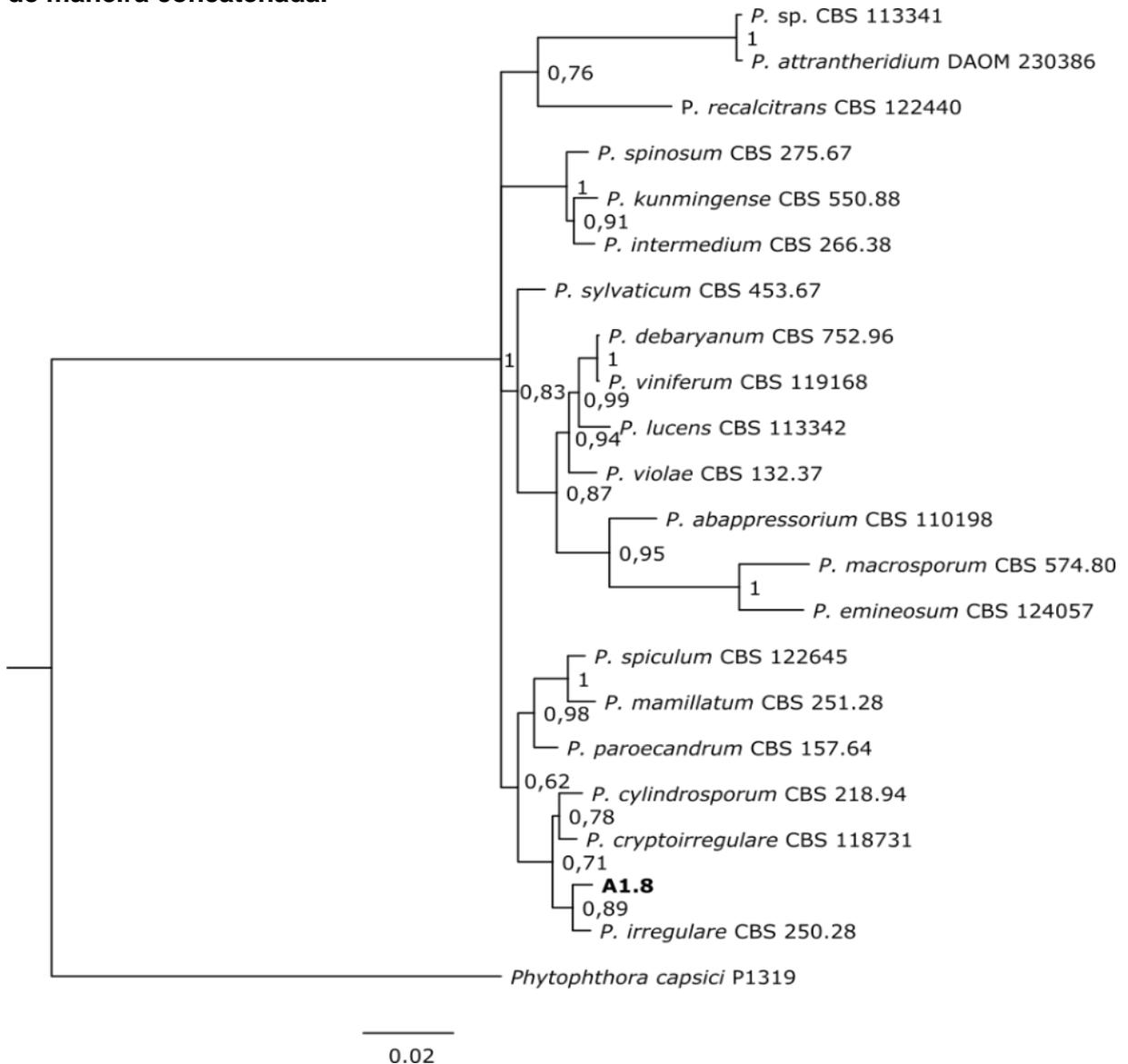
Este é o primeiro relato no mundo de *F. falciforme*, *F. inflexum* e *F. lacertarum* ocasionando tombamento de plantulas na cultura do coentro.

Espécies de *F. solani* pertencentes ao complexo *solani*, já foi relatada ocasionando damping off em cultivos hidroponicos de coentro em Porto Rico (ESTÉVEZ DE JENSEN, 2009). Dentro do complexo *oxysporum*, a espécie *F. oxysporum* já foi relatada causando damping off na cultura do coentro, na Califórnia e Índia (KOIKE, 2005; SINGH, 2009). Espécies de *F. lacertarum* já foram relatados no Brasil por Polleto et al. (2015), porém, causando damping off em plantas de *Casuarina equisetifolia*.

4.2.2 Gênero *Pythium*

A análise molecular utilizando os genes ITS e COX2, permitiu identificar o isolado A1.8 como *P. irregulare*. As sequências obtidas para ambos os genes, foram utilizadas para construção de uma árvore filogenética de inferência Bayesianade de maneira concatenada (Figura 4). As amplificações utilizando estes genes, gerou fragmentos de aproximadamente 1000 e 600 pb, respectivamente. Ao comparar as sequências obtidas com as sequências depositadas no NCBI, utilizando a ferramenta BLAST, o isolado A.18, demonstrou 99 e 100% de identidade com outros isolados de *P. irregulare*, respectivamente.

Figura 4 - Árvore filogenética de Inferência Bayesiana com sequências de isolados de *Pythium* spp. e *Phytophthora capsici* considerando as regiões genômicas ITS e COX2 de maneira concatenada.



Esse é o primeiro relato de *P. irregulare*, causando tombamento de plântulas de coentro no Brasil e no mundo. Porém, outras espécies como, *P. ultimum* e *P. dissotocum* já foram relatadas causando damping-off em coentro na Itália e em Porto Rico, respectivamente (GARIBALDI et al., 2010; ROMERO et al., 2012).

Hyde et al. (2014), estudando a taxonomia e filogenia molecular de espécies do gênero *Pythium*, destacaram que a espécie *P. irregulare* está classificada no clado F, que engloba algumas espécies como: *P. intermedium*, *P. cryptoirregulare*, *P. macrosporum*, *P. recalitrans*, onde as espécies inseridas apresentam algumas características morfológicas semelhantes.

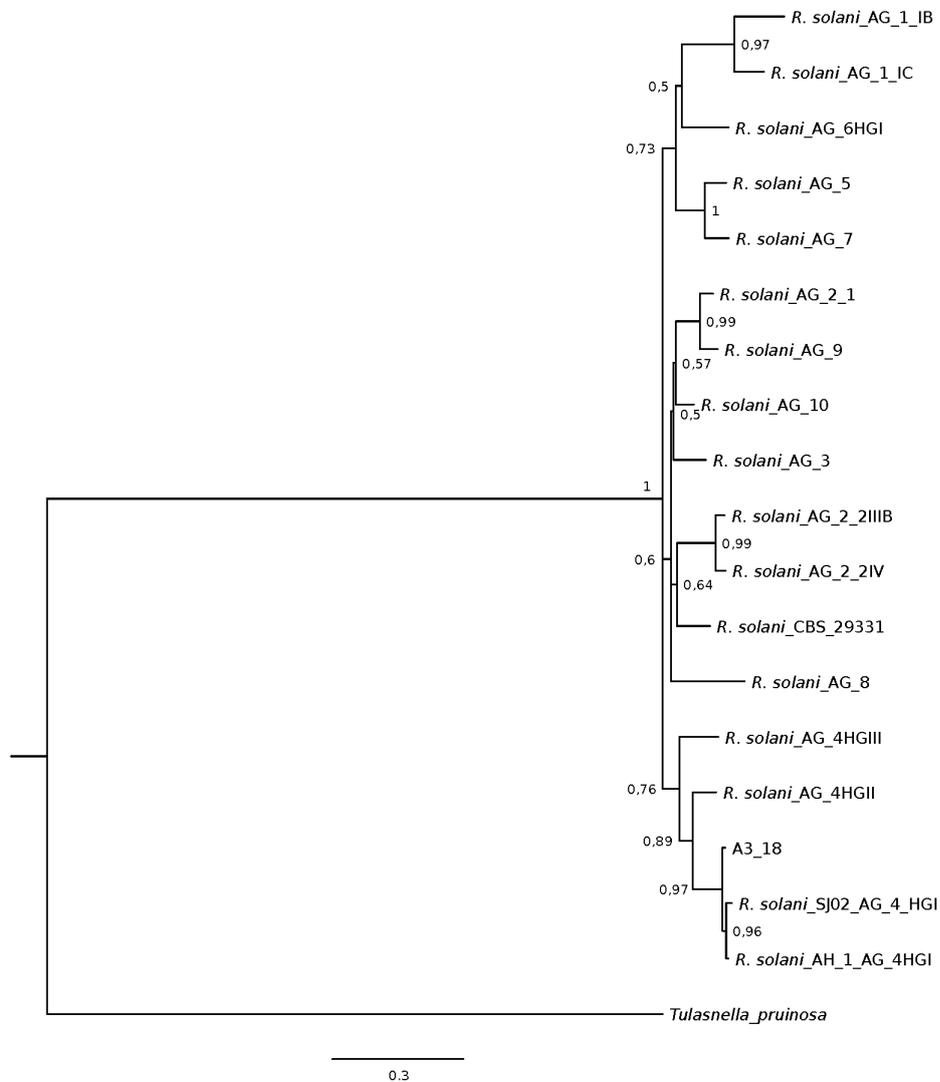
A espécie *P. Irregulare* atualmente tem sido relatada em mais de 200 espécies hospedeiras, como por exemplo: abacaxi, cereais, gramíneas, pimenta, morango, milho, soja, pepino, cebola, cenoura entre outras (VAN DER PLAATS-NITERINK, 1981; FARR et al. 2008). Além disso, está entre as espécies fitopatogênicas mais importantes do mundo para o gênero *Pythium* junto com *P. ultimum*, *P. aphanidermatum* e *P. myriotylum* (TRIGIANO et al., 2004).

4.2.3 Gênero *Rhizoctonia*

As ampliações utilizando-se os primers ITS1/ITS4, EF645F/EF1190R e 6F/71R geraram fragmentos de 530, 371 e 802 pb, para os genes ITS, TEF e RPB2 respectivamente.

A comparação das sequências obtidas com sequências depositadas no NCBI, utilizando a ferramenta BLAST, revelou identidades variando de 99, 100 e 100% respectivamente com isolados de *Rhizoctonia solani*. As sequências obtidas foram concatenadas e utilizadas para construção de uma árvore filogenética de inferência Baysiana, que permitiu identificar o isolado A1.18 de *R. solani*, como pertencente ao grupo de anastomose 4 (AG-4) (Figura 5).

Figura 5 - Árvore filogenética de Inferência Bayesiana com sequências de isolados de *Rhizoctonia solani* e *Tulasnella pruinosa* considerando as regiões genômicas ITS, TEF e RPB2 de maneira concatenada.



Esse é o primeiro relato de espécies de *R. solani*, associadas ao damping off na cultura do coentro no Brasil. p Madia, M (1995) relatou espécies de *R. solani* associadas ao tombamento de plantulas na cultura do coentro, em Buenos Aires.

O grupo de anastomose AG-4 engloba patógenos associados ao damping off em uma ampla gama de hospedeiros como hortaliças, beterraba, amendoim, soja, dentre outras (Kuninaga & Yokosawa, 1984).

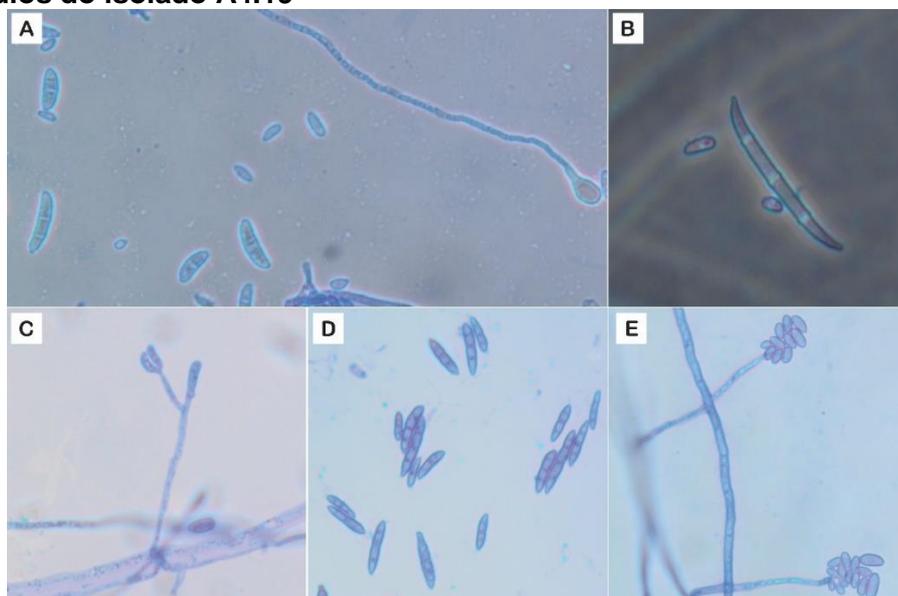
4.3 Caracterização morfocultural

4.3.1 Gênero *Fusarium*

Os isolados do gênero *Fusarium* quando analisados morfológicamente em microscópio óptico apresentaram características distintas para alguns isolados. Os isolados A3.1 e A4.19 apresentaram apenas microconídios hialinos, unicelulares, com formato cilíndrico a oval, com tamanho variando de 6,58-3,04 e 5,95-2,84 μm de comprimento e 2,08-0,82 e 2,16-0,86 μm de largura respectivamente, e com relação C/L de 3,63 e 3,03 μm respectivamente, com clamidósporos ausentes. Apesar da ausência de macroconídios não ser uma característica morfológica habitual, outros autores já relataram essa ocorrência para esse gênero (DORIA, 2012).

Já os isolados A1.11, A2.2 e A3.3 apresentaram macroconídios hialinos, fusiforme, falcados, apresentando de quatro a 5 septos, com tamanho variando de 13,67-7,01, 20,86-5,72 e 15,23-7,00 μm de comprimento e largura 6,77-2,70, 11,47-3,63 e 9,97-3,74 μm respectivamente, e relação C/L de 4,22, 5,31 e 6,42 μm respectivamente. Os microconídios apresentaram-se hialinos, unicelulares, com formato cilíndrico a oval, com tamanhos variando de 5,16-2,04, 5,62-2,75 e 5,02-1,98 μm e largura variando em 2,05-0,97, 1,79-0,88 e 1,82-0,91 μm respectivamente, com presença de clamidósporo nos três isolados (Figura 6). Resultados semelhantes foram observados por Lazarotto (2013) em estudos de identificação e caracterização de isolados de *Fusarium* spp. associados a Nogueira-pecã, onde os isolados apresentaram a produção de macro e microconídios e presença de clamidósporos.

Figura 6 - Características morfológicas dos isolados de *Fusarium*. (A) –microconídios e clamidósporos do isolado A1.11; (B) - macro e microconídios do isolado A2.2; (C) – microconídios do isolados A3.1; (E) macro e microconídios do isolado A3.3; (F) - microconídios do isolado A4.19

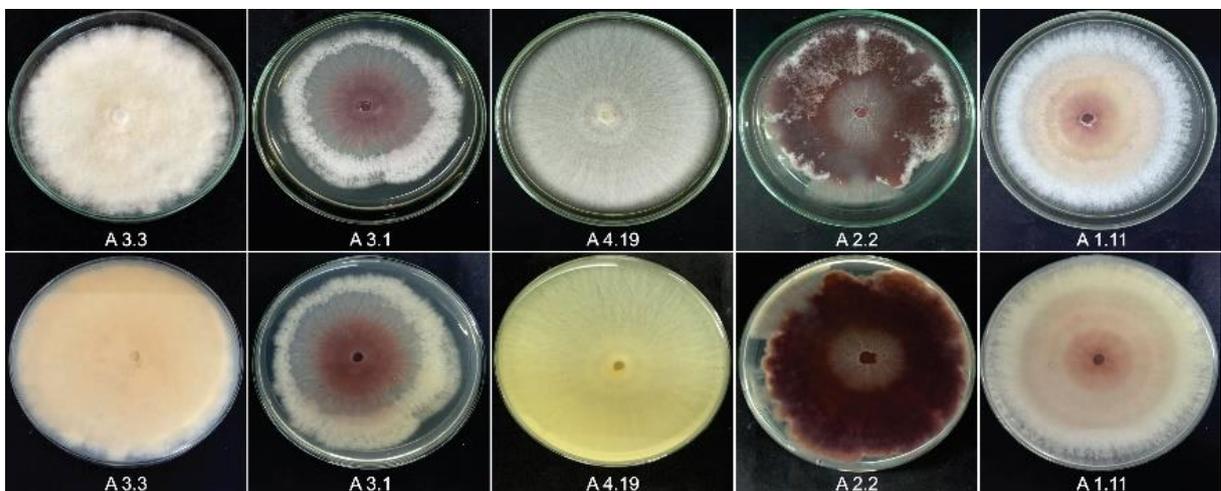


Fonte: Autor, 2016

Para caracterização cultural, os isolados A1.11, A2.2, A3.1, A3.3 A4.19 pertencentes ao gênero *Fusarium* sp. obtiveram um índice de crescimento micelial (ICM) de 8,9mm, 8,3mm, 6,2mm, 8,6mm e 8,8mm/dia respectivamente. Apresentaram micélio aéreo reduzido (colônias com o micélio crescido rente ao meio de cultura). Em relação a coloração das colônias o isolado A3.3 apresentou coloração bege no verso e no reverso, o isolado A1.11 uma coloração no verso e reverso das placas bordas brancas com centro violeta, o isolado A2.2 bordas esbranquiçadas e centro com uma coloração vermelho carmim, e no reverso vermelho carmim, o isolado A4.19 apresentou uma coloração branca no verso e bege no seu reverso e o isolado A3.1 uma coloração com bordas brancas com centro violeta e reverso bordas creme com centro violeta (Figura 7).

Conforme proposto por Nelson et al. (1983), a taxonomia de espécies do gênero *Fusarium*, utilizando apenas características morfo culturais é bastante controversa, sendo de fundamental importância a caracterização filogenética.

Figura 7 - Coloração das colônias obtidas em meio BDA dos 5 isolados obtidos do tombamento de plântulas de coentro, verso e reverso das placas.



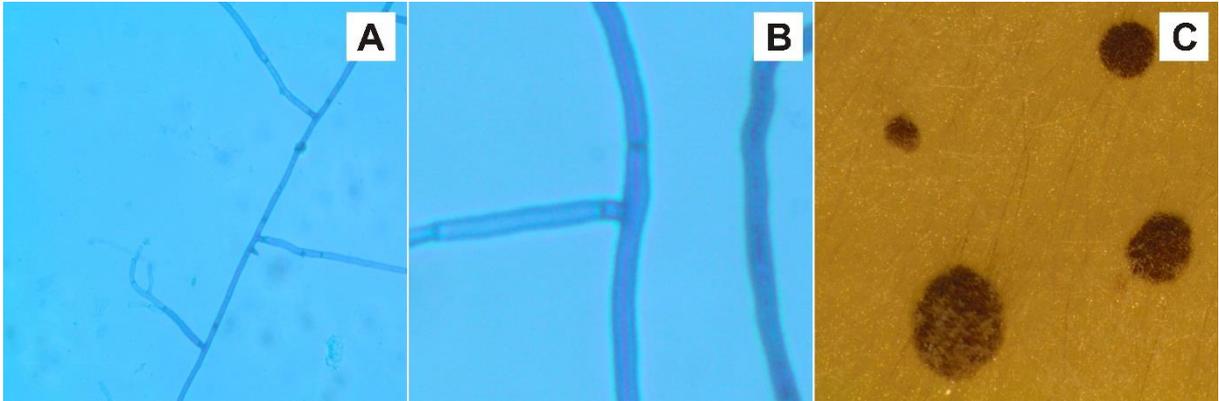
Fonte: Autor, 2016

4.3.2. Gênero *Rhizoctonia*

O isolado A3.18 pertencente ao gênero *Rhizoctonia* quando analisado morfológicamente apresentou a formação de hifas septadas, bem definidas e em angulação de 90° graus, e foi observada a produção de escleródios. Características

essas que também foram observadas por Oliveira et al. (2014) para o isolado de *Rhizoctonia solani* na cultura do algodão (Figura 8).

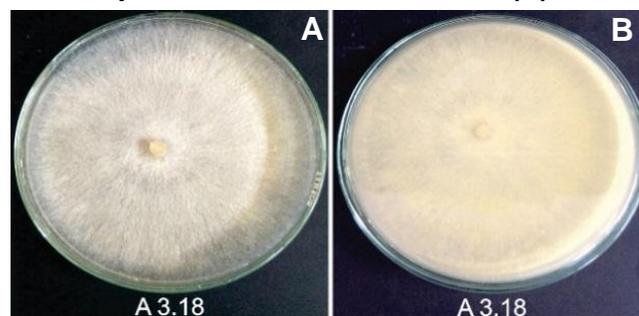
Figura 8 - Características morfológicas do isolado A3.18 de *Rhizoctonia*. (A-B) - hifas septadas formando ângulo de 90°; (C) – escleródios.



Fonte: Autor, 2016

Este isolado apresentou índice de crescimento micelial (ICM) de 18,6 mm/dia, apresentou micélio aéreo reduzido, e uma coloração inicialmente branca envolvendo para bege no verso e no reverso evoluindo para marrom com o envelhecimento (Figura 9). Dados semelhantes foram obtidos por Nechet et al. (2006) em um trabalho de caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp., associados a mela do feijão-caupi, coletados em Roraima, onde observaram que todos os isolados apresentaram colônias de coloração inicialmente branca, que se tornavam bege e com o envelhecimento a coloração evoluiria para uma tonalidade marrom a marrom escuro.

Figura 9 - Coloração das colônias obtidas em meio BDA sintético do isolado A3.18 obtidos do tombamento de plântulas de coentro, verso (A) e reverso da placa (B).



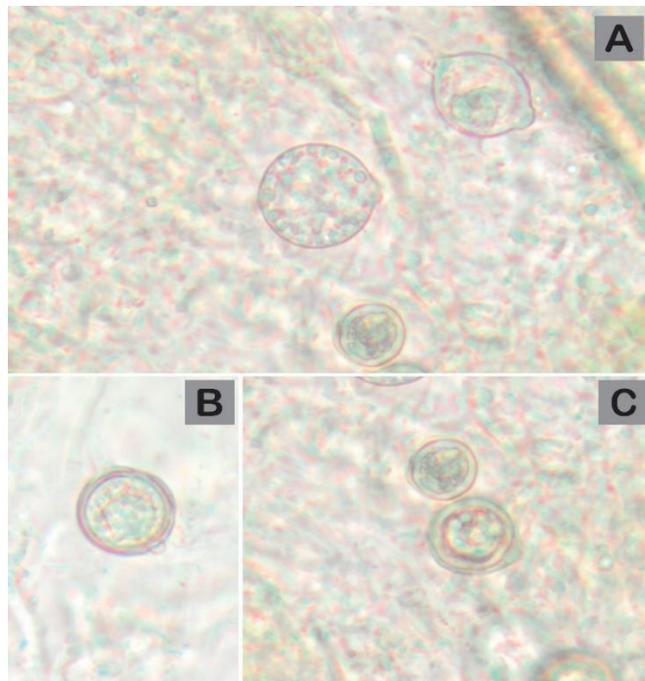
Fonte: Autor, 2016

4.3.3 Gênero *Pythium*.

O isolado A1.8 de *P. irregulare* apresentou micélio hialino e asseptado, onde se observou estruturas asexuadas como os esporângios que apresentaram-se

globosos, não papilados, terminais e intercalares, com diâmetro variando de 22,05 - 10,9 μm de comprimento e largura variando de 10,74 - 6,35 μm com relação C/L de 1,92 μm , e estruturas de reprodução sexuada como oogônio que são de formato esférico, com o comprimento variando de 11,45 - 9,2 μm e largura variando de 12,7 - 8,65 μm com relação C/L de 1,04 μm , e anterídio em número de 1 a 2 por oogônio. De acordo com a chave taxonômica proposta por Van der Plaats-Niterink (1981), as descrições morfológicas da espécie do isolado de *Pythium* aproximaram-se da espécie *P. irregulare*. Garzón et al. (2007) observaram características semelhantes ao isolado A1.8 em estudos sobre espécies de *P. irregulare* (Figura 10).

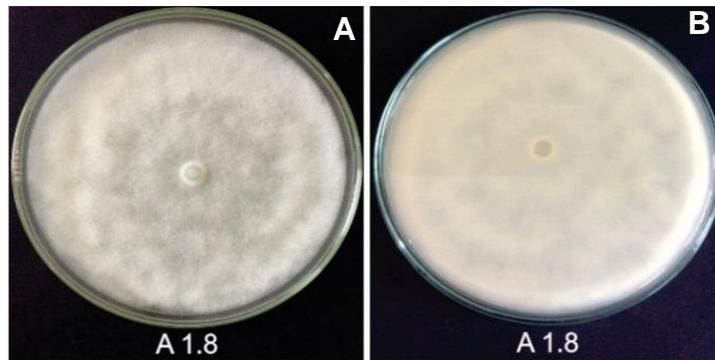
Figura 10 - Estruturas de propagação de *Pythium irregulare*. Esporângios (A); oósporos (B); oogônio com anterídio (C).



Fonte: Autor, 2016

O isolado A1.8 pertencente ao gênero *Pythium* obteve índice de crescimento micelial (ICM) de 22,8mm/dia e micélio aéreo reduzido. Apresentou tanto no verso quanto reverso coloração branca (Figura 11).

Figura 11 - Coloração das colônias obtidas em meio BDA sintético do isolado A1.8 obtido a partir do isolamento de plântulas de coentro tombadas, verso (A) e reverso (B) da placa.



Fonte: Autor, 2016

4.4 Efeito da Interação entre *F. inflexum*, *P. irregulare* e *R. solani* no tombamento da cultura do coentro.

Quando o inóculo de *P. irregulare* foi depositado no solo isoladamente, o estande médio de plântulas de coentro foi de 16,67, sendo que mais da metade dessas plântulas apresentaram tombamento (Figura 12). A deposição do inóculo de *R. solani* isoladamente resultou num estande de 14,67 plântulas e porcentagem de tombamento ligeiramente superior a 60% (Figura 12). No tratamento com *Fusarium*, o estande foi reduzido para 10,67 plântulas e o tombamento superou os 70% (Figura 12).

Todos os tratamentos onde se procedeu a inoculação de mais de um patógeno simultaneamente resultaram no aumento da incidência de tombamento e redução da germinação das sementes de coentro, conforme verificado na Figura 12. A combinação de inóculo de *P. irregulare* e *F. inflexum* resultou em estande de 8,67 plântulas e tombamento de quase 70%. Pieczarka & Abawi (1978), relataram na cultura do feijoeiro, que o dano provocado por *P. ultimum* predispôs às plantas à infecção por *F. solani*, resultando em maior dano em relação àqueles produzidos pelos patógenos isoladamente.

No tratamento representado pela combinação de inóculos de *P. irregulare* e *R. solani*, o estande verificado foi de 12,67 plântulas e o tombamento da ordem de 70%. Para o tratamento com inóculos de *F. inflexum* e *R. solani* o estande foi reduzido a 7,67 plântulas e o tombamento alcançou os 91,67%. Finalmente, o tratamento que combinou os inóculos de *P. irregulare*, *R. solani* e *F. inflexum*, resultou em um estande médio de 6,67 plântulas e percentual de tombamento de quase 96% (Figura 12).

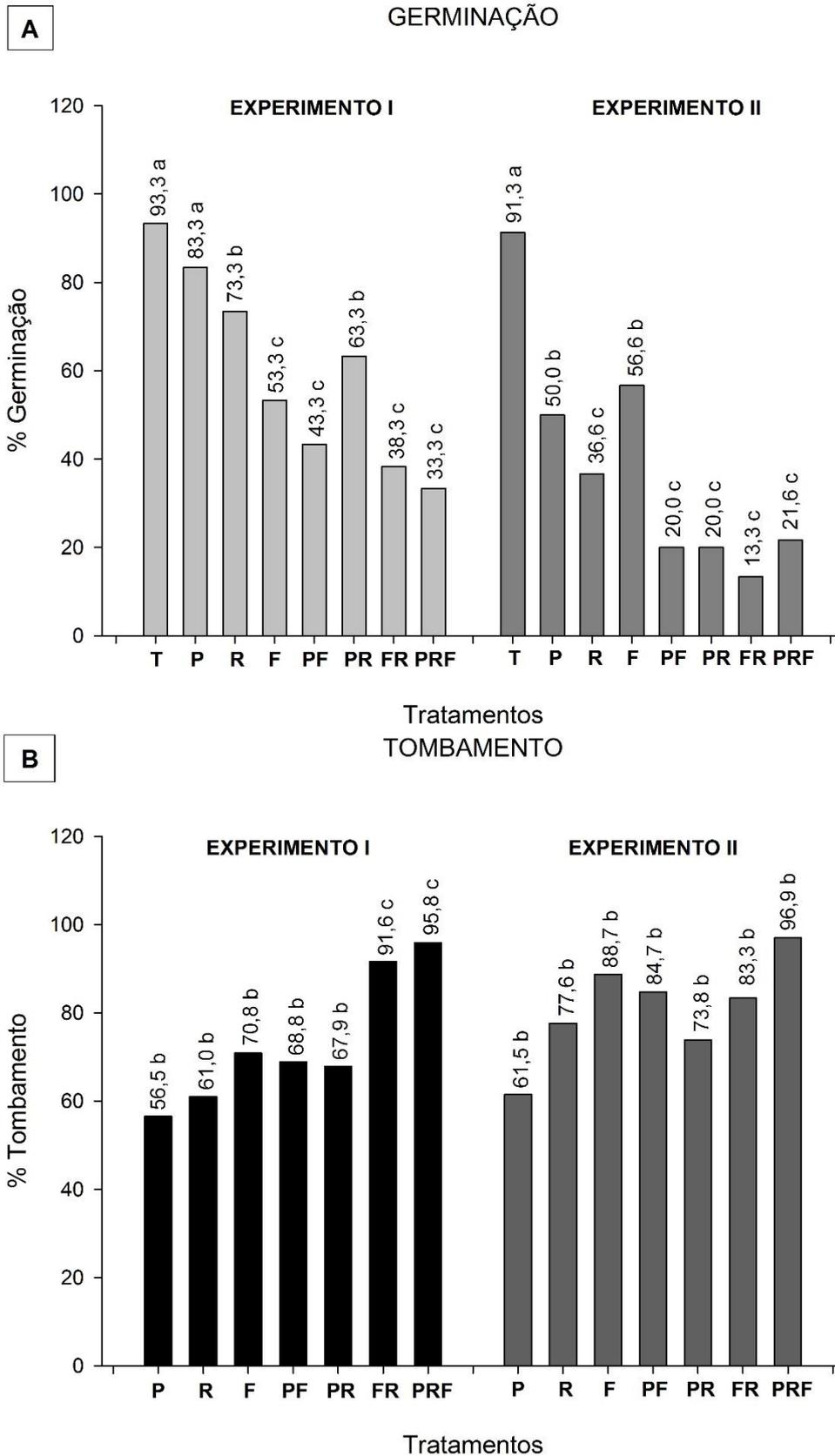
Tanaka et al. (1995), em estudos com patógenos radiculares associados à cultura do morangueiro, observaram resultados semelhantes aos deste trabalho, onde as lesões radiculares foram mais frequentes nos tratamentos onde se inoculou *R. solani* na presença de *Fusarium* sp. Observaram também que as lesões radiculares foram mais frequentes nos solos inoculados com os três patógenos em conjunto.

A incorporação dos restos culturais ao solo, seguido de novo plantio, proporcionou redução da germinação e aumento do tombamento de plântulas do coentro, conforme constatado na figura 6. Fenille (1999) em estudos sobre o efeito da incorporação de restos de material vegetal no solo sobre a patogenicidade de *Rhizoctonia* sp., observou que nos tratamentos onde foram incorporados materiais orgânicos, a tendência foi de aumento na porcentagem de tombamento à medida que se aumentou o tempo de permanência do patógeno no solo na ausência do hospedeiro, o que está relacionado ao incremento da disponibilidade de nutrientes, e ao favorecimento da atividade saprofítica de *Rhizoctonia*.

Em estudos envolvendo a cultura da soja, Adee et al. (1994) relataram grande severidade de podridão parda da haste (*Sclerotinia sclerotiorum*), devido à alta densidade de inóculo do patógeno nos restos culturais incorporados, e à lenta decomposição desses resíduos. Em um novo estudo, Adee et al. (1997) observaram maior quantidade de propágulos do fungo em restos infectados de soja posicionados na superfície do solo. Observaram também que os resíduos de restos culturais, mantem viáveis patógenos necrotróficos causadores de doenças à cultura como também hospedam alguns patógenos de outras espécies. Por outro lado, Chang (1994) verificaram elevada mortalidade de plantas de *Alstroemeria* infectadas com *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Fusarium* em associação.

Quando se inoculou os patógenos separadamente, foram reisolados os respectivos patógenos: *P. irregulare*, *R. solani* e *F. inflexum*. Quando se inoculou mais de um patógeno o resultado variou. De um modo geral *P. irregulare* apresentou menor capacidade de competição, pois em nenhuma combinação foi reisolado. Quando se inoculou *F. inflexum* e *R. solani* ambos os patógenos foram reisolados, mesma situação verificada quando os três patógenos foram inoculados. Resultados semelhantes foram encontrados por Chang (1994), que reisolou *F. oxysporum* e *R. solani* em 90% de plantas de *Alstroemeria* cultivadas em solos infestados com os três patógenos simultaneamente.

Figura 12 - Comparação entre os experimentos 1 e 2, em relação as médias da porcentagem de germinação e tombamento da cultura do coentro. (A) - germinação e (B) - tombamento.



* T= testemunha, P= *P. irregulare*, R= *R. solani*, F= *F. inflexum*, P + F= *P. irregulare* + *F. inflexum*, P+R= *P. irregulare* + *R. solani*, F+R= *F. inflexum* + *R. solani*, P+F+R= *P. irregulare* + *F. inflexum* + *R. solani*, Experimento I = sem incorporação dos restos vegetais, Experimento II = com incorporação dos restos vegetais. Letras iguais no gráfico não diferem estatisticamente no teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

Conclusão

- *Fusarium inflexum*, *F. lacertarum*, *F. falciforme*, *Pythium irregulare* e *Rhizoctonia solani*, foram identificados como responsáveis pelo tombamento de plântulas de coentro na região de Arapiraca-AL.
- Esse é o primeiro relato de *P. irregulare* e *F. inflexum*, *F. lacertarum* e *F. falciforme* causando damping-off em plântulas de coentro no mundo e o primeiro relato de *R. solani* causando tombamento de plântulas no Brasil.
- As inoculações simultâneas de *F. inflexum*, *P. irregulare* e *R. solani*, aumentaram a incidência do tombamento e reduziram o estande de plântulas de coentro.
- A incorporação de plântulas de coentro infectadas e subsequente cultivo de coentro diminuiu a porcentagem de germinação e elevou a incidência do tombamento.

Referências

- ADEE, E.A.; GRAU, C.R.; OPLINGER, E.S. Inoculum density of *Phialophora gregata* related to severity of brown stem rot and yield of soybean in microplot studies. **Plant Disease**, v.79, p.68-73, 1994.
- ADEE, E.A.; GRAU, C.R.; OPLINGER, E.S. Population dynamics of *Phialophora gregata* in soybean residue. **Plant Disease**, v.81, p.199-203, 1997.
- AGUIAR, C. **Botânica para Ciências Agrárias e do Ambiente**. Sistemática. Instituto Politécnico de Bragança, v. 3, p. 87-88, 2012.
- ALTSCHUL S.F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, 403-410, 1990.
- AMIR, H.; Alabouvette, C. Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to Fusarium wilts. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.157-164, 1993
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. & BERGAMIN FILHO, A. eds. **Manual de Fitopatologia**. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 4ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo, 2011.
- ARAPIRACA. Relatório das características socioeconômicas e culturais do município de Arapiraca-AL. Arapiraca: UFAL, 2007.
- BARBOSA, M.A.G. et al. Biocontrole de *Rhizoctonia solani* em caupi pelo tratamento de sementes com *Pseudomonas* spp. fluorescentes. **Summa Phytopathologica**, v. 21, p. 151-157, 1995.
- BAKER, K.F. Types of *Rhizoctonia solani* diseases and their occurrence. In: PARMETER, J.R., (ed.). *Rhizoctonia solani*. **Biology and Pathology**. Berkeley, University of California, p.189-199, 1970.
- BRASIER, C.M.; RAYNER, A.D.M. Whiter terminology below the species level. **Evolutionary Biology of the Fungi**. Cambridge Univ. Press, 1987.
- BINAGWA, P.H. et al. Morphological and molecular identification of Pythium spp. isolated from common beans (*Phaseolus vulgaris*) infected with root rot disease. **African Journal of Plant Science**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2016.
- BOLKAN, H.A.; RIBEIRO, W.R.C. Anastomosis group and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. **Plant Disease**, v. 69, p.599-601, 1985.
- CABI Biosciences. **Index Fungorum**. 2004 Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org>> Acesso em: maio, 2016.
- CAMPACI, C.A.; FIGUEIREDO, M.B. Ocorrência de rizoctonioze em amendoim. **O Biológico**, v. 30, p. 267-8, 1964.

CARLING, D.E.; SUMNER D.R. *Rhizoctonia*. In: SINGLETON, L.L., MIHAIL, J.D., RUSH, C.M. (eds.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: American Phytopathological Society, p.157-65, 1992.

CARRUBBA, A. Nitrogen fertilisation in coriander (*Coriandrum sativum* L.): a review and meta-analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 89, p. 921–926, 2009.

CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man sterile distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.70, p. 181-184, 1967.

CERESINI, P.C.; SOUZA, N.L. Associação de *Rhizoctonia* spp. binucleadas e *R. solani* Kühn AG4 HGI e AG 2-2 IIIB ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 14-24, 1996.

CHANG, K. F. et al. Effect of interactions between *Fusarium*, *Rhizoctonia*, and *Pythium* on root and rhizome rot of *Alstroemeria*/Die Wirkung von Interaktionen zwischen *Fusarium*, *Rhizoctonia* und *Pythium* auf die Wurzel-und Rhizomfäule von *Alstroemeria*. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection**, p. 460-466, 1994.

CHET, I.; BAKER, R. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. **Phytopathology**, v.70, p.994-998, 1980.

COOKE, D.E.L. et al. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. **Fungal Genetics and Biology**, v. 30, p. 17–32. 2000.

CUBETA, M. A.; VILGALYS, R. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. **Phytopathology**, v.87, p.480-484, 1997.

DARUGHE, F., BARZEGAR, M., SAHARI, M.A. Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. **International Food Research Journal**, v. 19, p. 1253-1260, 2012.

DIEDERICHSEN, A. **Coriander, *Coriandrum sativum* L.**, IPGRI, Gatersleben, 83p., 1996.

EDUCAR. USP. Aspectos Sociais e Econômicos de Arapiraca. Disponível em: <http://educar.sc.usp.br/biologia/cp/Arapiraca/relatorio.html>. 2006.

EIDI, M. et al. Effect of coriander seed (*Coriandrum sativum* L) ethanol extract on insulin release from pancreatic beta cells in streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Phytother. Res.** v. 23, p. 404-406, 2012.

ELOY, A.P. et al. Natureza da supressividade de solo à murcha-de-fusário do caupi e dinâmica populacional de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum*. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.209-218, 2004.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 1997. 212p.

ESTÉVEZ DE JENSEN, C.; ABAD, G.Z. *Fusarium solani* species complex newly identified to cause root rot in hydroponically grown lettuce and cilantro in Puerto Rico. **Plant Pathology**, v. 19, p. 801, 2009.

FARR, D.F. et al. Online. **Bases de dados de fungos, Botânica Sistemática e Laboratório de Micologia**, ARS, USDA, 2004.

FENILLE, R.C.; CIAMPI, M.B.; KURAMAE, E.E.; SOUZA, N.L. Identification of *Rhizoctonia solani* associated with soybean in Brazil by rDNA-ITS sequences. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 413-419, 2003.

FENILLE, R. C.; SOUZA, N.L. Notas científicas efeitos de materiais orgânicos e da umidade do solo na patogenicidade de *rhizoctonia solani* kühn ga-4 hgi ao feijoeiro1. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 34, n. 10, p. 1959-1967, 1999.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2.ed. Viçosa: UFV, 2003. 412p.

FURLETTI, V.F. et al. Action of *Coriandrum sativum* L. essential oil upon oral *Candida albicans* biofilm formation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 9p., 2011.

GARIBALDI, A; GILARDI, G.; GULLINO, M.L. First Report of Collar and Root Rot Caused by *Pythium ultimum* on Coriander in Italy. **Plant Disease**, v. 94, p. 1167, 2010.

GARZÓN, Carla D.; YÁNEZ, Jeniffer M.; MOORMAN, Gary W. *Pythium cryptoirregulare*, a new species within the *P. irregulare* complex. **Mycologia**, v. 99, n. 2, p. 291-301, 2007.

GHINI, R.; SCHOENMAKER, I.A.S.; BETTIOL, W. Solarização do solo e incorporação de fontes de matéria orgânica no controle de *Pythium* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1253-1261, 2002.

GIL, A. et al. Coriander essential oil composition from two genotypes grown in diferente environmental conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 50, p. 2870-2877, 2002.

GUPTA, M. et al. First report of bacterial spot in coriander caused by *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* in Índia. **Plant Disease**, v. 97, p.418, 2013.

HARDHAM, A.R. Cell biology of plant-oomycete interactions. **Cellular Microbiology**, v. 9, p. 31-39, 2007.

HENDRIX, F.F.; CAMPBELL, W.A. *Pythium* as a plant pathogen. **Annual Review of Phytopathology**, v.11, p. 77-98, 1973.

HUDSPETH, D.S.S.; NADLER, S.A.; HUDSPETH, M.E.S. A COX2 molecular phylogeny of the Peronosporomycetes. **Mycologia**, v. 92, p. 674–684, 2000.

HÖPER, H.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of flax. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, p. 955-967, 1995.

HYDE, Kevin D. et al. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 21-125, 2014.

IBGE. **IBGE Cidades: Produção Agrícola Municipal 2006**. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: abril de 2016, 2006.

ISLA SEMENTES, 2003. **Coentro Verdão Substitui o Coentro Palmeira**. Disponível em: <www.isla.com.br/artigo.cgi/coentro-verdao-substitui-o-coentro-palmeira>. Acesso em: 24 jul. 2009

JARVIS, W. R. **Managing diseases in greenhouse crops**. 2. ed. St. Paul: APS Press, 1992. 288 p.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Editora Nacional. 2002. 777p.

KOIKE, S. T; GORDON, T. R. First report of *Fusarium* wilt in cilantro caused by *Fusarium oxysporum* in California. **Plant Disease**, v. 89, p. 1130, 2005.

KUCHAREK, T.; MITCHELL, D. **Diseases of agronomic and vegetable crops caused by Pythium**. Plant Pathology Fact Sheet. University of Florida, 2000. Disponível em: <<http://128.227.207.24/takextpub/factSheets/pp53.pdf>> . Acesso em: jun. 2016.

KURAMAE, E.E. et al. Identification of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in Lettuce, AG 4 HG-I in Tomato and Melon, and AG 4 HG-III in Broccoli and Spinach, in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p. 391-395, 2003.

LATORRE, B.A. Cucurbitaceae, enfermidades. In: LATORRE, B. A., VAUGHAN, M.A., AGUILAR, P.G. **Plagas de las hortalizas: Manual de manejo integrado**. Santiago: FAO, 1990, p.155- 180.

LAZAROTTO, M. *identificação e caracterização de fusarium spp. e pestalotiopsis spp. associados a carya illinoensis no rio grande do sul*. 2013.

LEACH, L.D.; GARBER, R.H. Control of *Rhizoctonia solani*. In: PARMETER, J.R., ed. **Rhizoctonia solani: biology and pathology**. Berkeley, University of California, 1970. 478p.

LEE, Y. A; LIU, Y. H. First Report of Bacterial Leaf Blight of Coriander Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *coriandri* in Taiwan. **Plant Disease**, v. 88, p. 910, 2004.

- LÉVESQUE C.A.; De COCK A.W. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. **Mycological Research** 108: 1363–1383, 2004.
- LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium laboratory Manual**. Sydney, Blakwell. 2006, 388p.
- LIMA, M.F. et al. Coriander: a New Natural host of *Groundnut ring spot virus* in Brazil. **Plant Disease**, v.83, p.878, 1999.
- LOPES, Edson Batista et al. Influência de fatores químicos do solo sobre incidência do mal-do-Panamá na bananeira cv. Pacovan na Paraíba. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 1, p. 100-109, 2008.
- LIU, Z. L.; SINCLAIR, J. B. Differentiation of intraspecific groups within anastomosis group 1 of *Rhizoctonia solani* using ribosomal DNA internal transcribed spacer and isozyme comparisons. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 15, p. 272-280, Dec. 1993.
- LIU, Y.; WHELEN, S.; HALL, B. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, p. 1799-1808, 1999.
- LUZ, E.D.M.N. et al. **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Campinas: Editora Rural, p. 1-22, 1996.
- MADIA, M.; GAETÁN, S. Podredumbre basal y radicular del coriandro causada por *Rhizoctonia solani* Khün. **Bol. San. Veg. Plagas**, v. 21, p. 573-576, 1995.
- MARI, A. (2009) Coentro. Aphortesp - Associação dos Produtores de Horti-Fruti do Estado de São Paulo. Disponível em: < <http://www.aphortesp.com.br/coentro.html>>. Acesso em: abril, 2016.
- MARQUELLI, W.A. Controle da irrigação como estratégia na prevenção de doenças em hortaliças. **A Lavoura**. 2004. Disponível em: <<http://www.sna.agr.br/artigos/651/HORTICULTURA.pdf>>. Acesso: maio 2016
- MARTIN, F.N.; LOPER, J.E. Soilborne diseases caused by *Pythium* spp: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, p. 111-181, 1999.
- MATSUOKA, K. et al. Brássicas, doenças causadas por fungos e bactérias. **Informe Agropecuário**, v. 11, p.22-6, 1985.
- MAYA B., S.M. *Influencia de factores edáficos y de los componentes del patosistema Fusarium oxysporum f.sp. ciceris / Cicer arietinum en el desarrollo de la fusariosis vascular del garbanzo*. 2002. Tesis (Doctorado Protección de Cultivos) – Universidad de Córdoba, Córdoba. 2002.
- MAYNARD, D. *Armillaria* root disease, stand characteristics, and soil properties in young lodgepole pine. **Forest Ecology and Management**, v. 105, p. 37-44, 1998.

- MICHALCZYK, M. et al. Effect of adding essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) on the shelf life of ground beef. **Meat Science**, v. 90, p. 842-850, 2012.
- MICHEREFF, S.J. Influência de tipos de solos do estado de Pernambuco na intensidade de doença induzida por *Rhizoctonia solani* em feijoeiro. **Fitopatol. Bras.**, v. 21, p.19-25, 1996.
- MICHEREFF, S.J. et al. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. p. 1-18.
- MILANESI, P.M. *Caracterização, toxicidade e patogenicidade de Fusarium spp. em genótipos de soja em sistema plantio direto*. 2009. 91 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- MONCALVO, J.M.; WANG, H.H.; HSEU, R.S. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacer and 25S ribosomal DNA sequences. **Mycologia**, v. 87, p. 223–238, 1995.
- MOURA, R. M. Nematoides de interesse agrícola assinalados pela UFRPE no nordeste do Brasil (1967-2005). **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 289-292, 2005.
- NADEEM, M. et al. Nutritional and medicinal aspects of coriander (*Coriandrum sativum* L.). **A review. Brit. Food J**, v. 115, p. 743-755, 2013.
- NARDI, J.B. **Fumo e Desenvolvimento Local em Arapiraca/AL** - Primeiras observações e análises para a elaboração do diagnóstico socioeconômico municipal e regional. Arapiraca Projeto FAPEAL/CNPq/FUNESA. Arapiraca, 2006.
- NECHET, K. L.; HALFELD-VIEIRA, B. A. Caracterização de isolados de *Rhizoctonia* spp., associados à mela do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), coletados em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 505-508, 2006.
- NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; MARASAS, W.F.O. **Fusarium species: an Illustrated Manual for identification**. Pennsylvania State University Press. 125p., 1983.
- NENE, Y.L.; HAWARE, M.P. Screening chickpea for resistance to wilt. **Plant Disease** v. 64, p. 379-380, 1980.
- O'DONNELL, K. et al. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (zygomycota): evidence for family polyphyly on a large scale. **Mycologia**, v. 93, p. 286-296, 2001.
- O'DONNELL, K. et al. Internet accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 3708–3718, 2010.

- OGOSHI, A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 125-143, Jan./Dec. 1987.
- OLIVEIRA, A. P. et al. Desempenho de genótipos de coentro em Areia. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 252-255, 2007.
- OLIVEIRA, J.L. *Da crise do setor fumageiro a diversidade produtiva em Arapiraca AL: o projeto cinturão verde*. 2007. 108 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2007.
- OLIVEIRA, J.L. Cultivo de hortaliças em Arapiraca. SECRETARIA DE ESTADO DA COMUNICAÇÃO. Arapiraca, 2008. Disponível em: . Acesso em: xx de Julho de 2016.
- OLIVEIRA, C. C. A et al. Caracterização morfológica, genética e patogenicidade de isolados de *Rhizoctonia solani* provenientes de algodoeiros no Brasil= Morphological, genetic characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from cotton in Brazil. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, 2014.
- PEREIRA, R.S.; MUNIZ, M.F.B.; NASCIMENTO, W.M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 703-706, 2005.
- PERNEZY, K; RAID, R. N; JONES, J. B. Bacterial leaf spot of cilantro in Florida. **Plant Disease**, v. 81, p. 32, 1997.
- PIECZARKA, D. J.; ABAWI, G. S. Effect of interaction *Fusarium*, *Pythium* and *Rhizoctonia* on severity of bean root rot. **Phytopathology**, v. 68, p. 403-408, 1978.
- PLUNKETT, G.M.; SOLTIS, D.E.; PAMELA, D.S. Evolutionary Patterns in Apiaceae: Inference Based on matK Sequence Data. **Systematic Botany**, v. 21, p. 477-495, 1996.
- POLETO, T. et al. First Report of *Fusarium lacertarum* Causing Damping-Off in Casuarina equisetifolia in Brazil. **Plant Disease**, 2015.
- POTTER, T.L.; FAGERSON, I.S. Composition of coriander leaf volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 2054-2056, 1990.
- RAVI, R.; PRAKASH, M.; BHAT, K.K. Aroma characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) oil samples. **European Food Research and Technology**, v. 225, p. 367-374, 2007.
- REEB, V.; LUTZONI, F.; ROUX, C. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichenforming Acarosporaceae and evolution of polyspory. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, p. 1036–1060, 2004.
- REIS, A.; NASCIMENTO, W.M. New apiaceous hosts of *Sclerotinia sclerotiorum* in the Cerrado region of Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 122-124, 2011.

RIBEIRO, O.K. **A sourcebook of the genus *Phytophthora***. Germany, Vaduz. J. Cramer. 417 p., 1978.

RODRIGUES, F.A. et al. Fatores envolvidos na supressividade a *Rhizoctonia solani* em alguns solos tropicais brasileiros. **R. Bras. Ci. Solo** v. 22, p.239-246, 1998.

ROMÃO, S.R.L. A cidade do futuro: agenda 21 Arapiraca. Maceió: Ideário Comunicação e Cultura, 171 p., 2008.

ROMERO, G.; JENSEN, C. E. DE; PALMATEER, A.J. First report of *Pythium dissotocum* affecting cilantro in hydroponic systems in Puerto Rico. Online. **Plant Health Progress**, PHP-2012-1214-01-BR, 2012.

ROSA, D. D. et al. Diversidade de *Phytophthora parasitica* isolados de Citrus usando sequências de nucleotídeos da região ITS-5.8S rDNA. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 2, p. 190-193, 2006.

SÁ, M.F.A. Questão Ambiental e o Conhecimento Ecológico. Maceió: Ed. da autora, 2003.

SANTOS e SILVA, F. A. ASSISTAT 7.6 beta (pt). Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN – UFCG, Campina Grande, 2013.

SEPLANDE. Secretaria do Estado do Planejamento e do Desenvolvimento Econômico. **Oportunidade de Investimento**. 2015, 52 p. Disponível em: <http://investimentos.mdic.gov.br/public/arquivo/argq1316528802.pdf>>. Acesso em: Maio de 2016

SHEHATA, M.A.; PFLEGER, F.L.; DAVIS, D.W. Response of susceptible and moderately resistant pea genotypes to interaction between *Rhizoctonia solani* and three other stem and root rot pathogens. **Plant Disease**, v. 67, p. 1146-1148, 1983.

SILVA, F. et al. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. **Journal of Medical Microbiology**, v. 60, p. 1479–1486, 2011.

SILVA, C. A. D. et al. Interferência da incorporação de matéria orgânica no solo no controle da podridão negra da mandioca, causada por *scytalidium lignicola*. Ano 2013

SILVEIRA, S.F. et al. Characterization of *Rhizoctonia* species associated with foliar necrosis and leaf scorch of clonally-propagated *Eucalyptus* in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, p. 27-36, 2000.

SINGH, A. K. et al. Integrated management of wilt, *Fusarium oxysporum* f. sp. *coriandrii* of coriander. **Indian Journal of Plant Protection**, v. 37, p. 132-133, 2009.

SKOUBOE, P. et al. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. **Mycological Research**, v. 103, p. 873-881, 1999.

- SNEH, B. et al. ***Rhizoctonia Species***: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers, Boston, London, 1996, 578p.
- SOUZA, M. C. M. et al. Avaliação de genótipos de coentro sob cultivo hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v. 23, Suplemento 2, 2005.
- SRITI, J. et al. Lipid, fatty acid and tocol distribution of coriander fruit's diferente parts. **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 294-300, 2010.
- STAMPS, D.J.; WATERHOUSE, G.M.; NEWHOOK, F.J.; HALL, G.S. Revised tabular key to the genus *Phytophthora*. Wallingford, CAB International. **Mycological Papers** 162., 1990.
- SUNIL, C. et al. In vitro antioxidant, antidiabetic and antilipidemic activities of *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore bark. **J. Food Chem. Toxicol.** v. 50, p. 1547-1553, 2012.
- SUSSEL, A.A.B. et al. Caracterização de *Rhizoctonia solani*, agente etiológico do tombamento de mudas de café. **Summa Phytopathologica**, v. 27, p. 348-352, 2001.
- TANAKA, M.A.S.; ITO F.M.; PASSOS, A.F. Patogenicidade de *Rhizoctonia solani* em morangueiro. **Bragantia (Brasil)**. v. 54, n. 2, p. 319-324, 1995.
- TIAN, T.; LIU, H. Y; KOIKE, S.T. First Report *Apium virus* Y in Cilantro, Celery and Parsley in California. **Plant Disease**, v. 92, p. 1254, 2008.
- TRIGIANO, R.N.; WINDHAM, M.T. & WINDHAM, A.S. **Plant Pathology Concepts and Laboratory Exercises**. Boca Raton, CRC, p. 217-218, 2004.
- VAN DER PLAATS-NITERINK, J. Monograph of the genus *Pythium*. **Studies in Mycology**, n.21, 1981. Disponível em: <http://www.cbs.knaw.nl/simonline/sim_021/sim21.htm>. Acesso em: abril 2016
- VERMA, A. et al. A Review on *Coriandrum sativum* (Linn.) An Ayurvedic Medicinal Herb of Happiness. **J. Adv. Pharm. Healthcare Res.**, v. 1, p. 28-48, 2011.
- WANDERLEY JÚNIOR, L.J.G.; MELO, P.C.T. Tapacurá: nova cultivar de coentro adaptada às condições subtropicais do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. **Resumos...** Recife: SOB (CD-Rom), 2003.
- ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Essential oil composition of *Coriandrum sativum* seed cultivated in Algeria as food grains protectant. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1226-1228, 2010.
- WANG, P.H.; WANG, Y.T.; E WHITE, J.G. Species-specific PCR primers for *Pythium* developed from ribosomal ITS1 region. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, p. 127-132. 2003.

- WATERHOUSE, G.M.; NEWHOOK, F.J.; STAMPS, D.J. Present criteria for classification of *Phytophthora*. In: ERWIN, D.C.; BARTNIC-GARCIA, S.; TSAO, P.H. (Eds.) *Phytophthora*, its biology, taxonomy, ecology and pathology. **American Phytopathological Society**, p.139-147. 1983.
- WINDELS, C.E. Current status of *Fusarium* taxonomy. **Phytopathology**, v. 81, p.1048–1051, 1991.
- WHITE, T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J., editors. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York, N.Y: **Academic Press**, p. 315–322, 1990.
- WHIPPS, J.M. Developments in the biological control of soilborne plant pathogens. In: CALLOW, J.A. (Ed.). **Advances in botanical research**. Birmingham: Academic, v.26, p.1-84, 1997.