



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA**

**EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS NO**  
**CRESCIMENTO E CONTROLE DE *Pythium***  
***aphanidermatum* EM DUAS VARIEDADES DE COENTRO**

**EVELINE MENDES DA SILVA**

**VITÓRIA DA CONQUISTA**  
**BAHIA - BRASIL**  
**2022**

**EVELINE MENDES DA SILVA**

**EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS NO CRESCIMENTO E  
CONTROLE DE *Pythium aphanidermatum* EM DUAS VARIEDADES DE  
COENTRO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Quelmo Silva de Novaes

VITÓRIA DA CONQUISTA – BA  
BAHIA - BRASIL  
2022

S862e

Silva, Eveline Mendes da.

Efeito de produtos químicos e biológicos no crescimento e controle de *Pythium aphanidermatum* em duas variedades de coentro. / Eveline Mendes da Silva, 2022.

67f. : il.

Orientador (a): Dr. Quelmo Silva de Novaes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia. Vitória da Conquista, 2022.

Inclui referência F. 55 - 67.

1. *Coriandrum sativum*. 2. Podridão de raiz – Patógeno de solo. 3. Oomicetos. 4. Fitossanidade. I. Novaes, Quelmo Silva de. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós- Graduação em Agronomia. T.III.

CDD. 632

**Catálogo na fonte: Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890**

UESB – Campus Vitória da Conquista – BA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**Área de Concentração em Fitotecnia**

*Campus de Vitória da Conquista, BA*

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** EFEITO DE PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS NO CRESCIMENTO E CONTROLE DE *Pythium aphanidermatum* EM DUAS VARIEDADES DE COENTRO

**Autora:** Eveline Mendes da Silva

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela seguinte Banca Examinadora:



---

Quelmo Silva de Novaes, D.Sc., UESB  
Presidente



---

José Luiz Bezerra, D.Sc., UFRB



---

Leandro Dias da Silva, D.Sc., PNP/UESB

Data de realização: 27 de janeiro de 2022.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pela vida, saúde, sabedoria, força e proteção em todos os momentos.

À minha mãe Eva, meu pai Ariene, meus irmãos Adailton e Everton, pelo amor, compreensão e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu companheiro Bruno, pelo apoio incondicional, por sempre acreditar em mim, por todo amor, carinho e compreensão.

Sou grata ao professor orientador Dr. Quelmo Silva de Novaes, pela orientação, paciência, profissionalismo e pelos ensinamentos valiosos que foram imprescindíveis para realização desta pesquisa e para minha formação profissional e pessoal.

Ao professor Dr. Armínio Santos, pelos ensinamentos, entusiasmo e parceria.

Ao professor Alcebíades Rebouças, pela disponibilização dos vasos para execução do experimento.

Aos amigos que a universidade me proporcionou: Natália Deniz, Rosilene Pinheiro, Leandro Dias, Raul Bonfim e Mateus Pires, pela valiosa troca de experiência, auxílio nas análises, pelos momentos agradáveis e pelo companheirismo nos momentos de preocupações.

Ao Naasoon Mesquita, pelas contribuições ao longo do desenvolvimento deste estudo e auxílio nas análises. E à Poliana Prates, pelas valiosas contribuições neste trabalho, além do auxílio nas avaliações.

Ao Rafael Vilela (UFPE), pela colaboração nas análises filogenéticas.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao técnico do laboratório de Fitopatologia, Aquinaldo, pelos auxílios nas atividades do experimento; e aos servidores de campo que contribuíram para a instalação do experimento.

Dedico também ao produtor Gildemar Neves, pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

E a todas as pessoas que, de alguma forma, estiveram presentes e contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

SILVA, E. M. **Efeito de produtos químicos e biológicos no crescimento e controle de *Pythium aphanidermatum* em duas variedades de coentro.** Vitória da Conquista – BA, UESB, 2021. 64p. (Dissertação: Mestrado em Agronomia; Área de Concentração: Fitotecnia)\*.

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma olerícola de grande importância, muito utilizada na culinária. Contudo, problemas fitossanitários vêm provocando grandes perdas, levando muitos produtores a abandonarem áreas infestadas. Nessa perspectiva, objetivou-se adquirir informações de produtos que possam ser utilizados no controle do *Pythium aphanidermatum*, contribuindo no planejamento de estratégias de manejo da doença. Realizou-se dois experimentos, o primeiro *in vitro*, a fim de verificar o efeito de produtos sobre o crescimento do *P. aphanidermatum* (fosfito de potássio, extrato de *Melaleuca alternifolia*, fosetil-Al, *Bacillus subtilis*, *Lactobacilos plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*), nas concentrações de 0, 10, 100, 500 e 1000 ppm do produto em meio BDA. Foi realizado também um pareamento entre espécies de *Trichoderma* (*Trichoderma* sp. e *Trichoderma harzianum*) com o patógeno. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com sete repetições para o pareamento, e para o efeito de produtos, cinco tratamentos e sete repetições. Em ambos, as placas foram incubadas em BOD, a uma temperatura aproximada de 25° C, com fotoperíodo de 12 horas, por três dias. O segundo experimento foi realizado em casa de vegetação em um esquema fatorial 8 x 2, sendo estes: controle, fosfito de potássio, extrato de *Melaleuca alternifolia*, fosetil-Al, *Bacillus subtilis*, *Lactobacilos plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma* sp. e *Trichoderma harzianum*; com duas variedades de coentro, Verdão e Americano Gigante. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições. Realizou-se a aplicação dos produtos a cada sete dias até o final do ciclo. As avaliações foram realizadas durante o experimento e após a retirada deste, sendo este o primeiro relato de *Pythium aphanidermatum* provocando danos na cultura do coentro. O crescimento micelial reduziu na presença de todos os produtos. Espécies de *Trichoderma* spp. inibiram significativamente o crescimento micelial, sendo o *Trichoderma* sp. o mais eficiente. Para a variedade Verdão, o extrato de *M. alternifolia* exibiu maior eficiência no controle de *P. aphanidermatum*, por reduzir a incidência e o tombamento de pós-emergência e regular positivamente as trocas gasosas, resultando em crescimento das plantas e acúmulo de massa fresca de raízes e parte aérea. Na Americano, o extrato de *M. alternifolia* também foi eficiente no controle de *P. aphanidermatum*, resultando em crescimento radicular das plantas, no entanto, a taxa fotossintética e condutância estomática foi maior sob aplicação de *Trichoderma* sp. A variedade Verdão se mostrou mais tolerante ao estresse provocado pelo *Pythium aphanidermatum*. Plantas controle foram mais afetadas quanto às características de crescimento, teor de pigmentos e trocas gasosas.

**Palavras-chave:** *Coriandrum sativum*; podridão de raiz; patógeno de solo; oomicetos; fitossanidade.

---

\*Orientador: Prof. Dr. Quelmo Silva de Novaes, UESB.

## ABSTRACT

SILVA, E. M. **Effect of chemical and biological products on the growth and control of *Pythium aphanidermatum* in two coriander varieties.** Vitória da Conquista – BA, UESB, 2021. 64p. (Dissertation: Master in Agronomy; Area of Concentration: Crop Science)\*

Coriander (*Coriandrum sativum* L.) is a vegetable crop of great importance, widely used in cooking. However, a phytosanitary problem has been causing great losses, leading many producers to abandon infested areas. In this perspective, the objective was to acquire information on products that can be used to control *Pythium aphanidermatum*, contributing to the planning of disease management strategies. Two experiments were carried out, the first *in vitro*, in order to verify the effect of products on the growth of *P. aphanidermatum* (potassium phosphite, *Melaleuca alternifolia* extract, fosetyl-Al, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*) in concentrations of 0, 10, 100, 500 and 1000 ppm of the product in PDA medium. A pairing was also performed between *Trichoderma* species (*Trichoderma* sp. and *Trichoderma harzianum*) with the pathogen. A completely randomized design was used, with seven replications for pairing, and for the effect of products, five treatments and seven replications. In both, the plates were incubated in BOD at a temperature of approximately 25°C, with a photoperiod of 12 hours, for three days. The second experiment was carried out in a greenhouse in an 8 x 2 factorial scheme, as follows: control, potassium phosphite, *Melaleuca alternifolia* extract, fosetyl-Al, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma* sp. and *Trichoderma harzianum*; and two varieties of coriander, Verdão and Americano Gigante. A randomized block design with 4 replications was used. The products were applied every seven days until the end of the cycle. Evaluations were carried out during the experiment and after its removal. This is the first report of *Pythium aphanidermatum* causing damage to the coriander crop. Mycelial growth was reduced in the presence of all products. *Trichoderma* spp. significantly inhibited mycelial growth, and *Trichoderma* sp. the most efficient. For Verdão, the *M. alternifolia* extract showed greater efficiency in the control of *P. aphanidermatum*, by reducing the incidence and post-emergence damping off and positively regulating gas exchange, resulting in plant growth and accumulation of fresh mass of roots and part aerial. In Americano, *M. alternifolia* extract was also efficient in controlling *P. aphanidermatum*, resulting in plant root growth, however, photosynthetic rate and stomatal conductance were higher under *Trichoderma* sp. The Verdão variety was more tolerant to the stress caused by *Pythium aphanidermatum*. Control plants were more affected in terms of growth characteristics, pigment content and gas exchange.

**Keywords:** *Coriandrum sativum*; root rot; soil pathogen; oomycetes; plant health.

---

\*Orientador: Prof. Dr. Quelmo Silva de Novaes, UESB.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Canteiros de coentro exibindo falhas de germinação e sintomas de tombamento .....	25
<b>Figura 2</b> – Plantas com sintomas de tombamento provocado por <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	31
<b>Figura 3</b> – Avaliação de trocas gasosas em plantas de coentro .....	33
<b>Figura 4</b> – Árvore filogenética com sequência do isolado de <i>Pythium</i> sp. considerando as regiões genômicas ITS1 e ITS4 .....	34
<b>Figura 5</b> – Pareamento antagônico em meio de cultura BDA de <i>Trichoderma</i> spp. contra isolado de <i>Pythium aphanidermatum</i> . C- Controle, T- <i>Trichoderma</i> sp., TH- <i>Trichoderma harzianum</i> .....	35
<b>Figura 6</b> – Regressão polinomial no efeito de diferentes concentrações de produtos na inibição do crescimento micelial de <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	39
<b>Figura 7</b> – Emergência de plantas de coentro em função de variedades, Verdão (V) e Americano Gigante (AG) (A), e produtos aplicados (B). C- controle, FA- fosetil-AI, LS- <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , BS- <i>Bacillus subtilis</i> , T- <i>Trichoderma</i> sp., TH- <i>Trichoderma harzianum</i> , F- fosfito de potássio, EM- extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i> . Médias seguidas pela mesma letra entre os tratamentos não diferem entre si pelo de F e Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) .....	42
<b>Figura 8</b> – Tombamento de pós-emergência de plantas de coentro (TPOS) submetidas a diferentes produtos e espécies de <i>Trichoderma</i> . C- controle, FA- fosetil-AI, LS- <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , BS- <i>Bacillus subtilis</i> , T- <i>Trichoderma</i> sp., TH- <i>Trichoderma harzianum</i> , F- fosfito de potássio, EM- extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i> . Médias seguidas pela mesma letra entre os tratamentos não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) .....	43
<b>Figura 9</b> – Incidência em plantas de coentro (INC) submetidas a diferentes produtos e espécies de <i>Trichoderma</i> . C- controle, FA- fosetil-AI, LS- <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , BS- <i>Bacillus subtilis</i> , T- <i>Trichoderma</i> sp., TH- <i>Trichoderma harzianum</i> , F- fosfito de potássio, EM- extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i> . Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) .....	44
<b>Figura 10</b> – Altura de plantas (A) e comprimento de raiz (B) de plantas de coentro submetidas a diferentes produtos e espécies de <i>Trichoderma</i> . C- controle, FA- fosetil-AI, LS- <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , BS- <i>Bacillus subtilis</i> , T- <i>Trichoderma</i> sp., TH- <i>Trichoderma harzianum</i> , F- fosfito de potássio, EM- extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i> . Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) .....	47

**Figura 11** – Massa fresca de parte aérea (A) e Massa fresca de raíz (B) e de plantas de coentro, variedades Verdão e Americano Gigante. C- controle, FA- fosepil-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) ..... 48

**Figura 12** – Teores de clorofila total (A) e carotenoides (B) em folhas de coentro submetidas a diferentes produtos e espécies de *Trichoderma* C- controle, FA- fosepil-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) ..... 49

**Figura 13** – Taxa fotossintética (A) [A], condutância estomática (gs) [B], transpiração (E) [C] e relação Ci/Ca [D] de coentro. C- controle, FA- fosepil-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada tratamento pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos para cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) ..... 51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Produtos utilizados no bioensaio de eficiência <i>in vitro</i> no controle de <i>Pythium aphanidermatum</i> em plantas de coentro .....	30
<b>Tabela 2</b> – Análise química e física do solo .....	30
<b>Tabela 3</b> – Inibição do crescimento micelial de <i>Pythium aphanidermatum</i> a diferentes produtos e concentrações .....	37
<b>Tabela 4</b> – Equação de regressão, dose efetiva mediana (ED50) e eficiência de produtos químicos, estimadas pela análise de regressão das médias do crescimento micelial de <i>P. aphanidermatum</i> .....	40
<b>Tabela 5</b> – Resumo da análise de variância e coeficientes de variação das variáveis percentual de emergência (EME), percentual de tombamento de pós-emergência (TPOS) e incidência (INC) em plantas de coentro inoculadas com <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	41
<b>Tabela 6</b> – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação das variáveis altura de plantas (ALT), comprimento de raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) em plantas de coentro inoculadas com <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	45
<b>Tabela 7</b> – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) da clorofila total ( $Chl_{Total}$ ), carotenoides (Car), fotossíntese (A), condutância estomática (gs) e taxa transpiratória (E) em plantas de coentro inoculadas com <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	48

## LISTA DE SÍMBOLOS

<i>Chl</i> <sub>Total</sub>	Clorofila total (mg m <sup>-2</sup> )
<i>Car</i>	Carotenoides (mg m <sup>-2</sup> )
<i>E</i>	Taxa transpiratória (mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
<i>g<sub>s</sub></i>	Condutância estomática ao vapor de água (mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
<i>A</i>	Taxa fotossintética líquida (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
EME	Emergência (%)
TPOS	Tombamento de pós-emergência (100%)
INC	Incidência (%)
MFPA	Massa fresca da parte aérea (g)
MFR	Massa fresca de raiz (g)
ALT	Altura de plantas (cm)
CR	Comprimento de raiz (cm)

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 A produção de hortaliças em Lagoa das Flores.....	15
2.2 Aspectos da cultura do coentro.....	15
2.3 Importância econômica.....	16
2.4 Problemas fitossanitários.....	17
2.5 <i>Pythium</i> spp. ....	18
2.6 Estratégias de manejo.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Inibição <i>in vitro</i> do crescimento micelial de <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	24
3.1.1 Isolamento e cultivo de <i>Pythium aphanidermatum</i> .....	24
3.1.2 Caracterização molecular.....	26
3.1.2.1 Extração de DNA.....	26
3.1.2.2 Amplificação, Purificação e Sequenciamento do DNA.....	26
3.1.3 Cultivo de <i>Trichoderma</i> spp.....	27
3.1.4 Cultura pareada com <i>Trichoderma</i> spp.....	27
3.1.5 Sensibilidade a produtos.....	27
3.1.6 Delineamento experimental em condições <i>in vitro</i> .....	28
3.2 Ensaio <i>in vivo</i> .....	29
3.2.1 Preparo dos inóculos.....	29
3.2.2 Experimento em casa de vegetação.....	29
3.2.2.1 Análise de solo.....	30
3.2.3 Características avaliadas.....	31
3.2.3.1 Emergência.....	31
3.2.3.2 Tombamento de pós-emergência.....	31
3.2.3.3 Incidência.....	32

3.2.3.4	Altura e comprimento de raiz .....	32
3.2.3.5	Massa fresca da parte aérea e raiz .....	32
3.2.3.6	Extração e quantificação de clorofila e carotenoides .....	32
3.2.3.7	Trocas gasosas foliares .....	33
3.2.4	Análise estatística .....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
4.1	Caracterização molecular .....	34
4.2	Antagonismo por <i>Trichoderma</i> spp.....	35
4.3	Sensibilidade a produtos químicos .....	36
4.4	Efeito de produtos no controle do <i>Pythium aphanidermatum</i> em variedades comerciais de coentro .....	41
4.4.1	Análises morfológicas .....	41
4.4.2	Características relacionadas ao crescimento.....	45
4.4.3	Variáveis fisiológicas .....	48
4.4.3.1	Pigmentos fotossintéticos .....	49
4.4.3.2	Trocas gasosas foliares .....	50
5	CONCLUSÕES .....	54
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	55

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura exerce grande influência em aspectos sociais, políticos e econômicos no Brasil. Dentro da agricultura, o setor de hortaliças é uma área em pleno crescimento que movimenta em torno de 19 bilhões de reais anualmente no país (CNA, 2017). Em toda a sua cadeia produtiva, do campo ao varejo, ocupa uma área com cerca de 820 mil hectares, com produção de 20 milhões de toneladas de 18 hortaliças diferentes (Abcsem, 2009).

Em Vitória da Conquista-BA, a região de Lagoa das Flores tem se destacado pela grande produção de hortaliças, principalmente o coentro, visando à produção de folhas e frutos, *in natura*, muito utilizados na culinária regional (Bertini *et al.*, 2010; Nascimento e Pereira, 2005). A comercialização é feita principalmente para municípios do estado da Bahia e também em estabelecimentos comerciais e feiras livres da cidade, apresentando-se como uma importante fonte de renda para produtores da zona rural. No entanto, a produção de coentro, nessa região, tem sido reduzida significativamente devido a problemas fitossanitários.

Dentre os agentes patogênicos, os que mais têm causado prejuízos na produção são os que provocam danos ao sistema radicular. Nesta região, o *Pythium* sp. é o principal patógeno que afeta as plantas, causando lesões necróticas no colo e na raiz, o que ocasiona murcha da parte aérea, com posterior tombamento (damping-off), chegando a causar a morte da planta (Ferreira, 2013).

A realização de plantios sucessivos em uma mesma área tem ocasionado aumento da incidência da doença, fazendo com que os produtores implementem novas áreas, isentas desse patógeno, para evitar danos à produção. Além disso, medidas de controle devem ser utilizadas para atenuar a doença nas áreas de produção (Amorim *et al.*, 2018).

Portanto, faz-se necessário realizar estudos para definir quais as medidas de controle mais eficientes para controlar a doença, causada pelo *Pythium aphanidermatum* na cultura do coentro, e, conseqüentemente, minimizar as perdas na produção. Nesse sentido, objetiva-se com este trabalho analisar o efeito *in vitro* e *in vivo* de produtos químicos e biológicos sobre o crescimento e controle do *P. aphanidermatum* na cultura do coentro (*Coriandrum sativum* L.), bem como no desenvolvimento das plantas submetidas a esses produtos.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 A produção de hortaliças em Lagoa das Flores**

O município de Vitória da Conquista, localizado no sudoeste da Bahia, possui um polo de produção de hortaliças na região norte, conhecido como Lagoa das Flores, às margens da BR 116, km 10 no estado da Bahia (Damascêno, 2012).

Essa região traz à discussão acerca da relação campo-cidade, pois é considerada área de expansão urbana pelo Plano Diretor da Cidade. Contudo, também apresenta um contexto social no qual várias famílias possuem renda proveniente do trabalho agrícola, realizado em pequenas frações de terra (Souza *et al.*, 2016). Em sua totalidade, a Lagoa das Flores possui uma área aproximada de 500 ha, formada por um grupo de pequenos produtores os quais cultivam hortaliças e flores em lotes que variam de 1000 m<sup>2</sup> a 30.000 m<sup>2</sup>, com uma média de 1,1 ha por propriedade (Santos, 2015).

A Lagoa da Fores é considerada um grande polo regional de olericultura, com um sistema de produção caracterizado como agricultura familiar. As hortaliças produzidas são destinadas à central de abastecimento da cidade de Vitória da Conquista e exportadas para diversos municípios das regiões Sul e Sudoeste da Bahia (Damascêno, 2012).

### **2.2 Aspectos da cultura do coentro**

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma hortaliça herbácea, de ciclo anual, de porte baixo, com variação de 25 a 60 cm, pertencente à família Apiaceae, provavelmente, com origem no Sul da Europa e Oriente (Embrapa, 2010). É uma das famílias de plantas mais conhecidas, amplamente distribuídas em regiões de clima temperado, compreendendo cerca de 3.800 espécies, distribuídas em 455 gêneros (Sriti *et al.*, 2010; Aguiar, 2012).

O coentro apresenta germinação epígea, com raiz pivotante do tipo fusiforme, pouco profunda, explorando a superfície de 15 a 20 cm do solo (Ledo e Sousa, 1997), caule ereto e poucas ramificações. As folhas são compostas, profundamente partidas e com disposição alternada, coloração predominantemente verde. Contudo, com o amadurecimento, no fim da ontogênese, é normal haver uma alteração de cor em várias partes, devido à presença de antocianinas (Santos *et al.*, 1992; Diederichsen, 1996).

As inflorescências são do tipo umbela, com flores hermafroditas (brancas ou róseas) e pequenas (Pimentel, 1985). É uma espécie de polinização cruzada, realizada principalmente por insetos polinizadores. O fruto é um diaquênio ovoide, globuloso, de 3-4 mm de diâmetro, e podem se separar em dois aquênios hemisféricos (Corrêa, 1984), sendo a propagação do tipo sexuada, por meio de sementes.

A recomendação geral, para que ocorra a colheita, é entre o 50° e 70° dia após a sementeira (Filgueira, 2008). Contudo, em algumas regiões, a depender da variedade, a colheita é realizada entre o 30° e 40° dia após a sementeira. Nessa situação, a planta é colhida inteira, antes da frutificação, com folhas, hastes e talos frescos. Logo após, são feitos molhos com aproximadamente 22 plantas, de 25 a 30 cm de altura (sem considerar as raízes), para serem comercializados.

Dentre as cultivares mais usadas no Brasil, destacam-se a Verdão, Tabocas e Português. Além destas, estão disponíveis também a Rei, Gigante, Tapacurá e Americano. Entretanto, em algumas regiões, os agricultores utilizam sementes produzidas por eles mesmos (Pereira *et al.*, 2005; Filgueira, 2008). Na região nordeste, a cultivar mais difundida é a Verdão, tendo como vantagens um ciclo precoce, de 30 a 40 dias, planta vigorosa, de excelente rusticidade e boa resistência às doenças foliares (Lima *et al.*, 2007; Pinheiro *et al.*, 2019).

Normalmente a cultura do coentro é conduzida diretamente no solo, a campo ou em cultivo protegido. É uma cultura de clima quente e tem pouca tolerância às baixas temperaturas, sendo que a maioria das variedades comercializadas pode ser cultivada na região nordeste do Brasil, em todas as estações do ano (Rocha, 2017). Possui moderada tolerância à acidez, sendo que as adubações orgânica e mineral são favoráveis ao seu desenvolvimento (Filgueira, 2008).

### **2.3 Importância econômica**

O coentro, apesar de ser considerada uma “cultura de quintal”, possui grande número de produtores envolvidos na sua produção, tornando-o de grande importância socioeconômica (Pereira *et al.*, 2005).

No Brasil, o coentro é uma hortaliça muito utilizada na culinária em saladas ou como condimento, sendo que as folhas, caules, frutos e raízes podem ser utilizados frescos ou secos, inteiros, picados ou moídos, e até mesmo como elemento decorativo na finalização de pratos (Filgueira, 1982; Cardoso, 1997). Os frutos, além de

consumidos como condimentos, também podem ser processados para extração do óleo essencial e da oleoresina (Diederichsen, 1996; Charles, 2013).

Em países como Europa e Estados Unidos, o coentro, além de ser utilizado na alimentação, é utilizado também na produção de bebidas, aromatizantes, repelentes e cosméticos (Nadeem *et al.*, 2013). Na área farmacêutica, também é utilizado, por conter propriedades antibacteriana, antifúngica, antioxidante, digestiva e calmante (Silva *et al.*, 2011; Mandal e Mandal, 2015).

O setor olerícola vem apresentando uma expressividade econômica, cada vez maior, no cenário do mercado nacional e internacional. Dentre a produção de hortaliças folhosas, o coentro ocupa a 6ª posição, ficando atrás apenas da alface, repolho, couve, brócolis e couve-flor, com uma produção de 120.583 toneladas (IBGE, 2017). Além de sua importância econômica, reveste-se de grande importância social, por sua abrangência.

Atualmente o coentro é cultivado em quase todos os países do mundo, sendo que as maiores áreas de produção encontram-se na China, Índia e antiga União Soviética. A maior parte dessa produção é utilizada para abastecer os mercados locais, existindo pouco comércio internacional (Reis e Lopes, 2016). Dentre os países do continente americano, o México se destaca como o maior produtor e exportador, com aproximadamente 5.000 hectares anuais cultivados para consumo interno e externo, especialmente para os EUA, Canadá e alguns países europeus (Reis e Lopes, 2016).

O cultivo no Brasil é voltado principalmente para a produção de folhas. No entanto, as sementes são importantes para propagação, sendo os estados de São Paulo e Minas Gerais os maiores produtores de sementes (Embrapa, 2010). Em 2009, foram comercializadas, no país, mais de 580 toneladas de sementes de coentro das cultivares Verdão e Português, 516,5 e 63,8 toneladas, respectivamente (Abcsem, 2009).

Apesar da sua importância socioeconômica, o Brasil possui grande carência de dados estatísticos sobre a produção de coentro, podendo ser explicado, em parte, pelo fato de ser produzido em pequenas propriedades (Reis e Lopes, 2016).

## **2.4 Problemas fitossanitários**

Em diversos países do mundo, já se têm relatos da sensibilidade do coentro ao ataque de microrganismos fitopatogênicos, como fungos, bactérias, vírus e nematoides (Filgueira, 2003). Dentre os fungos patogênicos que mais afetam a cultura, estão

espécies de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, e alguns oomicetos, do gênero *Pythium*, causando tombamento; *Sclerotinia sclerotiorum*, conhecida por provocar a doença conhecida por mofo branco; *Alternaria dauci*, promovendo sintomas de queima foliar, podendo ser transmitido por semente e também pode provocar tombamento de mudas; ainda, provocando manchas foliares, tem-se o oídio, causado pelo fungo *Oidiopsis haplophylli* (Koike e Gordon, 2005; Jesen e Abad, 2009; Garibaldi *et al.*, 2010; Bhaliya; Jadeja, 2014; Reis e Lopes, 2016).

Além dos fungos, a cultura do coentro também enfrenta problemas com nematoides e vírus. Dentre os principais gêneros de fitonematoides que atacam a cultura do coentro, encontram-se o *Meloidogyne*, *Rotylenchulus* sp., *Helicotylenchus* sp. e *Trichodorus* sp., os quais podem causar danos ao sistema radicular, como formação de galhas ou lesões necróticas, dificultando a absorção de água e nutrientes, provocando nanismo, amarelecimento e até mesmo a morte das plantas. Em consequência disso, acabam gerando grandes prejuízos, pois afetam a qualidade do produto a ser comercializado (Reis e Lopes, 2016; Dias *et al.*, 2020). Além disso, o local da infecção causada pelo nematoide facilita a entrada de outros patógenos (Ferraz *et al.*, 2010).

Com relação aos vírus, a doença, popularmente conhecida como vira cabeça, foi observada em plantios de coentro em Petrolina, PE (Lima *et al.*, 1999) e é causada pelo *Groundnut ringspot virus* (GRSV), o qual é transmitido por espécies de tripses. Os principais sintomas são nanismo, anéis cloróticos, necrose e deformação das folhas apicais (Reis e Lopes, 2016).

## **2.5 *Pythium* spp.**

O gênero *Pythium* é considerado um dos mais importantes dentre os organismos zoospóricos, principalmente devido ao seu potencial parasítico em plantas de interesse econômico (Plaats-Niterink, 1981). Este gênero foi descrito em 1858 e pertence ao reino Chromista filo Oomycota, classe Oomycetes, ordem Pythiales, e à família Pythiaceae, englobando mais de 140 espécies reconhecidas (Cabi Bioscience, 2004). Até a década de 90, o Reino Fungi agrupava todos os organismos conhecidos como fungos, incluindo os oomicetos. Contudo, o posicionamento filogenético e a condição polifilética das espécies levaram à separação em três Reinos distintos: Fungi, Chromista e Protozoa.

O *Pythium* sp. é um patógeno de solo que se encontra largamente distribuído no mundo em diversas culturas. A reprodução assexuada ocorre por meio da formação de

esporângios, com formato que varia de lobulado a globoso, que formam as vesículas de parede delicada e fina, no interior das quais se diferenciam esporangiósoros biflagelados, denominados zoósporos, nas extremidades das hifas asseptadas (Plaats-Niterink, 1981). Estes zoósporos são os esporos assexuados e atuam como agentes de dispersão dos oomicetos em meio aquoso e em condições de alta umidade, pois possuem dois flagelos que, após algum tempo, perdem a mobilidade, adquirindo um formato circular (Plaats-Niterink, 1981; Hardham, 2007).

A reprodução sexual ocorre por meio da formação do oósporo, originado a partir do contato dos órgãos sexuais, oogônio (gametângio masculino) e anterídio (gametângio feminino), formando um tubo de fertilização que penetra através da parede do oogônio, ocorrendo a passagem do material nuclear para o gametângio feminino. Os oósporos possuem uma espessa parede externa, caracterizando um esporo de resistência, em condições adversas (Massola Jr e Krugner, 2011).

Além dos estudos morfológicos detalhados para a descrição de espécies do gênero *Pythium*, faz-se necessária a utilização de técnicas moleculares que se baseiem em regiões genômicas específicas para confirmar a identificação das espécies (Wang *et al.*, 2003; Lévesque e De Cock, 2004).

Em estudos moleculares das regiões ITS e LSU do rDNA e COI do mDNA, foi verificado que o gênero *Pythium* é polifilético e que as espécies se dividem em 11 clados distintos (A-K), os quais estão inseridos em três grandes clados (Lévesque e De Cock, 2004; Bala *et al.*, 2010; Robideau *et al.*, 2011; Beakes *et al.*, 2014). O primeiro clado é constituído por espécies com zoosporângios filamentosos inflados e não inflados (clados A-D); o segundo, por espécies com zoosporângios globosos a esféricos (clados E-J); e o terceiro, por espécies com zoosporângios globosos similares ao apresentado pelo gênero *Phytophthora* (clado K).

Devido à complexidade na classificação, vem-se propondo novas mudanças na taxonomia. As análises filogenéticas, realizadas por Lévesque e De Cock (2004), demonstraram a existência de uma morfologia intermediária entre os gêneros *Pythium* e *Phytophthora* nos representantes do clado K. Por tal motivo, um novo gênero chamado *Phytopythium* Abad foi proposto por Bala *et al.* (2010), sendo amplamente aceito pela comunidade científica, devido às evidências filogenéticas. As espécies desse gênero, em se tratando da morfologia, possuem esporângios globosos, papilados (com exceção de *P. vexans*) e com proliferação interna semelhante com os apresentados por *Phytophthora* spp. Já o desenvolvimento e liberação dos zoósporos ocorrem em uma

vesícula externa ao zoosporângio, onde ocorre a maturação dos zoósporos e depois são liberados após rompimento, como em *Pythium* spp. (Bala *et al.*, 2010). Apesar das evidências, as espécies do clado K somente foram transferidas formalmente para o gênero *Phytopythium* há pouco tempo, sendo a espécie *Phytopythium sindhum* A.M. Lodhi, Shahzad e Lévesque proposta como a espécie-tipo do gênero (Bala *et al.*, 2010; vcDe Cock *et al.*, 2015; Jesus *et al.*, 2016).

O processo de infecção por *Pythium* spp. pode ocorrer por meio de várias estruturas, como esporângios, zoósporos, micélio e oósporos. Os esporângios e oósporos podem germinar pela formação do tubo germinativo ou indiretamente, produzindo zoósporos. Contudo, os zoósporos e micélios são as principais estruturas de infecção (Endo e Colt, 1974; Stanghellini e Rasmussen, 1994). A infecção por zoósporos ocorre por meio de um mecanismo quimiotático que os atrai até a raiz. Em seguida, ocorre o encistamento e, posteriormente, a penetração e infecção da raiz da planta.

A princípio, após o processo de infecção, as plantas serão assintomáticas, pois, nesta fase, chamada biotrófica, ocorrerá a colonização das raízes. Contudo, mesmo nesta fase, com ausência de sintomas de podridão radicular, ocorre uma redução na produção (Utkhede *et al.*, 2000), podendo chegar a prejuízos superiores a 50% (Baptista *et al.*, 2011). Posteriormente, têm-se a fase necrótica, quando as raízes se tornam escuras, com diferentes tonalidades de marrom ou amarelo, a depender do hospedeiro e das espécies envolvidas (Sutton *et al.*, 2006); e aspecto mole e encharcado, normalmente na região do colo, causando o tombamento, conhecido como *damping-off* (Hendrix e Campbell, 1973). Além dos sintomas no sistema radicular, apresentam também amarelecimento foliar e murcha, devido à destruição parcial do sistema radicular ou pelo impedimento do fluxo de seiva bruta através dos vasos do xilema (Bedendo, 2011).

A presença de *Pythium* sp. em cultivos de coentro, em Alagoas, foi observada por Infante *et al.* (2018), onde 90% das plantas apresentaram sintomas de tombamento. Inicialmente, os sintomas foram amarelecimento e, posteriormente, com o apodrecimento da raiz, declinaram. Após o isolamento do patógeno e sequenciamento dos genes ITS e Cox2, foi possível confirmar a identificação como *Pythium irregulare*, sendo o primeiro relato deste fungo, causando tombamentos em plantações de coentro no Brasil, o qual foi renomeado como *Globisporangium irregulare* (Uzuhashi *et al.*, 2010).

Outras espécies, como *P. ultimum* e *P. dissotocum*, já foram relatadas provocando os mesmos sintomas de *damping-off* em coentro na Itália e em Porto Rico, por Garibaldi *et al.* (2010) e Romero *et al.* (2012), respectivamente. Além dessas espécies, o *P. aphanidermatum* também foi relatado causando *damping-off* no coentro, na Índia (Ashwathi *et al.*, 2017).

## 2.6 Estratégias de manejo

Devido à característica de formação de estruturas de resistência, o controle de espécies de *Pythium* spp. torna-se ainda mais difícil. Portanto, o manejo de doenças causadas por esses patógenos consiste na associação de métodos de controle, como métodos preventivos com o uso de sementes saudáveis, a fim de se evitar a entrada do patógeno na área; métodos culturais, com solos de boa drenagem e manejo adequado da água de irrigação (Agrofit, 2021); rotações de culturas para espécies com gama de hospedeiras restrita. Contudo, devido ao fato de se tratar de um patógeno de solo, possuir um grande número de espécies hospedeiras e poder ocorrer como saprófita (Agrofit, 2021), a rotação de culturas pode não ser eficiente. Além disso, possuem estruturas de resistência que permitem a sua sobrevivência no solo por vários anos (Sutton *et al.*, 2006; Nzungize *et al.*, 2012; Grijalba e Ridão, 2017).

O controle físico, como a técnica de solarização, também pode ser utilizado e consiste na cobertura do solo com um filme plástico transparente que é colocado antes do plantio. A solarização se mostrou eficiente no controle de alguns patógenos de solo, como fungos dos gêneros: *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Macrophomina*; e também a bactéria *Ralstonia solanacearum*. Estes patógenos causam doenças, conhecidas como *damping-off*, podridão de raízes e colo e murchas vasculares (Bettioli *et al.*, 1994; Ghini *et al.*, 1997; Baptista *et al.*, 2007; Ambrósio *et al.*, 2008; Bedendo *et al.*, 2011).

Além dos métodos de controle citados anteriormente, existem também estratégias de controle químico e biológico. No controle químico, são utilizados, principalmente, fungicidas como fenilamidas e fosfonato, sendo que o primeiro atua na inibição da síntese do RNA por meio da modificação da polimerase, que está envolvida na produção de rRNA (Davidse, 1983; Hermann e Gisi, 2012). Já o segundo apresenta um complexo mecanismo de ação, sendo muitas vezes considerado indefinido. No entanto, já foi observada uma atuação diretamente sobre o patógeno, pela formação de

ácido fosforoso; e indiretamente pela indução de respostas de defesa no hospedeiro (Labuschagne, 2005). Dentro do primeiro grupo, encontram-se o metalaxil, metalaxil-M (mefenoxam) e benalaxil; no segundo, tem-se o fosetil alumínio, o qual é muito utilizado para o controle de *damping-off* e o mefenoxam vem sendo empregado no tratamento de sementes para controle de *Pythium* spp. no Brasil (Agrofit, 2021).

Com a crescente utilização de produtos químicos no controle de *Pythium* spp., algumas das espécies deste patógeno vêm adquirindo resistência a essas substâncias. Moorman e Kim (2004) observaram que isolados de *Pythium aphanidermatum*, *Globisporangium irregulare* e *P. ultimum* infectaram consistentemente mudas de gerânio que haviam sido tratadas com propamocarbe. Além disso, os isolados de *P. ultimum* e *G. irregulare* exibiram resistência dupla a fungicidas, ao superar propamocarbe, mefenoxam e uma mistura desses dois ingredientes ativos na infecção de mudas.

Surtos de podridão de sementes e amortecimento de sementes de grão-de-bico, tratadas com metalaxil, foram encontrados nas regiões de agricultura de sequeiro do sudeste de Washington e norte de Idaho. Posterior a essa observação, Wang *et al.* (2021) realizaram estudos nos quais foi possível observar que o uso de metalaxil não controlou a podridão das sementes de grão-de-bico causados por *Pythium ultimum*, indicando que este patógeno pode estar obtendo resistência.

Em trabalhos realizados por Cook e Zhang, em 1985, os isolados de *P. torulosum*, *Globisporangium irregulare*, de raízes de trigo, tiveram um crescimento de 15 a 50% no meio seletivo alterado com metalaxil, em concentração de 1 ppm, quando comparados às taxas de crescimento normais no mesmo meio sem metalaxil. Esses resultados levaram os autores a considerar que a falha do metalaxil, na inibição do crescimento dessas espécies de *Pythium* spp., pode ser responsável pela ineficiência do controle dessa doença em campo no noroeste do Pacífico.

Essa resistência ao grupo das fenilamidas já foi registrada em vários oomicetos, contudo, o mecanismo ainda é desconhecido, tendo indícios de que a resistência seja pelo fato da atuação ser em um sítio específico (RNA polimerase I); por tal motivo é considerado de alto risco para surgimento de populações resistentes (FRAC, 2019).

Diante disso, a utilização do controle biológico de doenças de plantas vem crescendo e ganhando cada vez mais espaço, pois vários estudos demonstram sua eficiência, contribuindo também para a redução do uso de agroquímicos.

Embora o foco do controle biológico seja o patógeno, o objetivo desse controle é a supressão da doença (Cook e Baker, 1983). Espécies de *Trichoderma* spp. estão entre os agentes de biocontrole mais estudados e utilizados. Já se tem vários relatos sobre a eficiência de várias espécies de *Trichoderma* spp. no controle de *Pythium* spp. em várias culturas. Por exemplo, na cultura do tomate Elshahawy e El-Mohamedy (2019), utilizaram uma combinação de cinco isolados de *Trichoderma* spp., proporcionando um aumento de 87,5% na sobrevivência da cultura. Neste estudo, foi constatado que os *Trichoderma* spp. isolados estimularam respostas de defesa sistêmica em tomateiros cultivados no campo, pela ativação de enzimas de defesa, incluindo peroxidase, polifenoloxidase e quitinase, corroborando Guzmán-Guzmán *et al.* (2018), os quais observaram que os mecanismos exercidos pelo *Trichoderma* spp. na planta são diversos, desde a prevenção ao ataque dos fitopatógenos, até o aumento de defesas da planta. Levantando a possibilidade de que não apenas as moléculas efetoras e metabólitos secundários estão envolvidos na interação fungo-planta, mas também hormônios, como auxinas e precursor de ácido abscísico, e os derivados de fungos também podem ter uma participação.

Além do controle de fitopatógenos, a utilização de *Trichoderma* tem-se mostrado capaz de promover o crescimento vegetal de plantas, como demonstrado por Sánchez-Montesinos *et al.* (2019), com aumentos de massa seca e peso do sistema radicular de plantas de melão. Além disso, o controle biológico de *P. ultimum*, por *T. aggressivum* f. sp. *europaeum* e *T. saturnisporum*, contribuiu para a redução da gravidade da doença em 62,96% e 51,85%, respectivamente.

A utilização de bactérias também tem sido utilizada de forma eficiente, como potenciais agentes de biocontrole no tombamento e incidência de plantas com *Pythium* spp., como *Streptomyces* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. e *Enterobacter* spp. (Li *et al.*, 2007; Al-Hinai *et al.*, 2010; Roberts *et al.*, 2011; Kipngeno *et al.*, 2015; Omoboye *et al.*, 2019; Postma e Nijhuis, 2019).

Outros produtos disponíveis no mercado, como fertilizantes, podem contribuir para a redução da severidade e incidência de doenças, chamados de indutores de resistência (Nojosa *et al.*, 2005). Dentre estes, formulações à base de fosfito (sal inorgânico de ácido fosforoso -  $H_3PO_3$ ) vêm recebendo atenção no controle de doenças, principalmente as que são causadas por oomicetos (Machinandiarena *et al.*, 2012).

A atuação dos fosfitos no controle de doenças pode se dar de várias formas. De forma direta, pois atua sobre o patógeno, inibindo o crescimento micelial, produção de

esporos e redução ou alterações no metabolismo, pois possui ação tóxica em algumas espécies (Deliopoulos *et al.*, 2010; King *et al.*, 2010). E de forma indireta, no estímulo do mecanismo de defesa das plantas, com a produção de fitoalexinas, espécies reativas de oxigênio e indução de enzimas antioxidantes (Lobato *et al.*, 2010; Eshraghi *et al.*, 2011).

Em estudos realizados por Mofidnakhai *et al.* (2016), sobre o impacto do fosfito de potássio na resposta de plantas de pepino inoculadas com *Pythium ultimum* var. *ultimum*, observou-se que as massas fresca e seca da parte aérea e da raiz apresentaram um aumento de até 2 vezes nas plantas tratadas com fosfito de potássio. Também houve aumentos significativos de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e peroxidase) nas plantas tratadas com fosfito de potássio. A indução de enzimas resultou em minimização dos sintomas de tombamento, levando ao aumento do crescimento e da produção da planta.

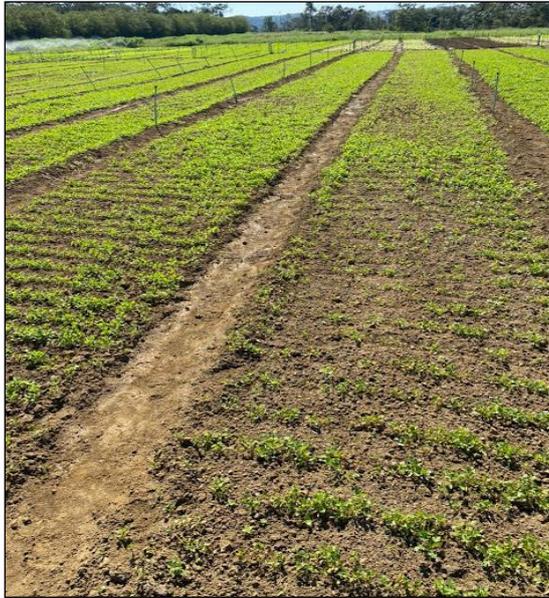
Na cultura da melancia, foi testada a capacidade do fosfito de potássio em induzir resistência ao fungo *Didymella bryoniae* (Abreu *et al.*, 2021). Foram realizados testes *in vitro* e *in situ*, e o fosfito, em todas as doses utilizadas *in vitro*, apresentou efeito fungitóxico, inibindo a germinação de conídios de *D. bryoniae*. No ensaio *in situ*, quando realizado o tratamento das sementes com o fosfito, obteve-se a total indução de resistência a *D. bryoniae*, a partir da dose de 200 µL/mL, demonstrando, assim, a eficiência desse produto no controle da doença.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Pythium aphanidermatum***

##### **3.1.1 Isolamento e cultivo de *Pythium aphanidermatum***

Amostras de solo infectado, provenientes da Lagoa das Flores (Figura 1), foram encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) para o devido isolamento e identificação do fungo.



**Figura 1.** Canteiros de coentro exibindo falhas de germinação e sintomas de tombamento.

Para realizar o isolamento, foi adicionada uma amostra de solo em placas de Petri esterilizadas, onde foi umedecida com água destilada autoclavada. Posteriormente, foi disposta sobre o solo uma tela de náilon e, acima desta, foram dispostas folhas de grama batatais, previamente fervidas por 6 minutos. Aproximadamente 3 dias depois, quando foi possível visualizar os micélios do patógeno, realizou-se a identificação e fragmentos de micélios foram transferidos para placas de Petri, contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para crescimento do microrganismo.

A identificação do *Pythium* sp. foi realizada inicialmente com base na presença de características morfológicas, como hifas asseptadas, esporângios, esporangiósporos e zoósporos.

As placas contendo os fungos foram mantidas em câmaras de crescimento do tipo BOD, com temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Os isolados originais foram constantemente repicados para novas placas, para manutenção de isolados sempre viáveis e patogênicos.

Para realização do teste de patogenicidade e confirmação do agente patogênico, foram utilizados vasos plásticos com capacidade para 2 L, onde foi depositado solo autoclavado. Em seguida, adicionou-se uma suspensão de micélios, obtidos das placas onde o *Pythium* sp. foi cultivado, e, posteriormente, plantadas as sementes de coentro. As plantas que apresentaram sintomas de *damping-off* e podridão de raiz foram utilizadas para o reisolamento do patógeno e posterior identificação. A identificação foi

realizada baseada nas características morfológicas, através de visualizações em microscópio óptico, completando, assim, os postulados de Koch.

### **3.1.2 Caracterização molecular**

#### **3.1.2.1 Extração de DNA**

A biomassa do fungo foi obtida a partir de culturas em BDA, mantidas a 28 °C, por até sete dias, em placas de Petri. Com auxílio de uma alça de platina, todo o micélio foi retirado e transferido para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de 0,5 g de contas de vidro (glass beads) com dois diâmetros diferentes, na proporção de 1:1 (acid-washed, 150-212 µm e 425-600 µm; Sigma, U.S. sieve). Foi realizada a extração do DNA genômico, seguindo a metodologia proposta por Oliveira *et al.* (2016), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2%, trituração por agitação em alta velocidade através de um FastPrep, uma lavagem com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

#### **3.1.2.2 Amplificação, Purificação e Sequenciamento do DNA**

Para amplificação das regiões ITS do rDNA, foram utilizados os primers ITS1 e ITS4 (White *et al.*, 1990). A PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi realizada com um volume final de 50 µL, os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes incluem os dNTPs, a Taq DNA polimerase, os iniciadores, água ultrapura e o tampão de reação (Oliveira *et al.*, 2014). Controles negativos, contendo todos os componentes exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Todos os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% e as amostras foram coradas pela adição de GelRed<sup>®</sup>. Os produtos de PCR, oriundos dos fungos endofíticos, foram purificados utilizando-se a enzima ExoSAP<sup>®</sup>, de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente, as amostras foram enviadas para a Plataforma Multiusuária de Sequenciamento de DNA do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Para a análise filogenética, as sequências obtidas foram preliminarmente comparadas com sequências similares, depositadas no *GenBank*, utilizando a ferramenta BLASTn. Logo depois, foram alinhadas e editadas no MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016).

A análise de Máxima Verossimilhança (1.000 bootstraps) foi realizada com PhyML (Guindon e Gascuel, 2003), executados a partir do programa Topali 2.5 (Milne *et al.*, 2004).

### **3.1.3 Cultivo de *Trichoderma* spp.**

Isolados de *Trichoderma* sp. foram cultivadas em meio de cultura BDA para crescimento e posterior utilização, sendo constantemente repicadas para novas placas, para manutenção de isolados sempre viáveis.

### **3.1.4 Cultura pareada com *Trichoderma* spp.**

Para o estudo do antagonismo *in vitro*, foi empregado o método da cultura pareada, no qual o *Trichoderma* sp. (T) e o *Trichoderma harzianum* (TH) foram utilizados contra o isolado do *Pythium aphanidermatum*. Discos de sete milímetros de diâmetro do meio de cultura contendo o *Trichoderma* sp. e *T. harzianum* foram retirados e colocados em uma das laterais da placa da Petri de 90 mm de diâmetro contendo BDA. Na outra extremidade, foi colocado um disco de mesmo diâmetro, contendo o *Pythium* sp., formando, assim, o pareamento das colônias. Os discos ficaram dispostos a aproximadamente 1,5 cm da borda das placas.

Em seguida, as placas foram levadas para a BOD, a 25 °C, fotoperíodo de 12 horas, e avaliadas duas vezes ao dia, às 7:00 e 19:00 horas, após o início da incubação.

### **3.1.5 Sensibilidade a produtos**

Foram utilizados os seguintes produtos: fosfito de potássio (F), extrato de *Melaleuca alternifolia* (EM), fosetil Al, *Bacillus subtilis* (BS), *Lactobacilos plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae* (LS), os quais foram diluídos em série e ajustados para as concentrações de 1, 10, 100, 500 e 1000 ppm de ingrediente ativo, em meio de cultura BDA, fundente a 45 e 50° C. Em seguida, verteu-se 20 mL do meio, contendo cada produto em placas de Petri de 90 milímetros de diâmetro. Após o resfriamento, foi transferido, para o centro de cada placa, um disco de micélio de *Pythium* sp. de sete milímetros de diâmetro, crescido em BDA. Placas contendo apenas o meio de cultura com *Pythium* sp. foram utilizadas como testemunha. As placas ficaram incubadas em

BOD, a uma temperatura aproximada de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por um período de 2 dias.

### 3.1.6 Delineamento experimental em condições *in vitro*

Os experimentos em condições *in vitro* foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete repetições para o pareamento com as duas espécies de *Trichoderma* spp., sendo cada placa considerada como uma parcela. Placas contendo apenas um disco de micélio de *Pythium* sp. no centro foram utilizadas como testemunhas. O mesmo delineamento (DIC) foi utilizado no ensaio de sensibilidade a produtos, contudo, foram utilizados cinco tratamentos e seis repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri.

As avaliações foram realizadas em duas etapas. Primeiramente medindo-se o diâmetro da colônia do *Pythium aphanidermatum*, com o auxílio de uma régua milimetrada, em dois sentidos transversais, previamente marcados na parte externa do fundo da placa de Petri, obtendo-se a média do crescimento micelial da colônia. Em seguida, calculou-se a percentagem de inibição (I) do *P. aphanidermatum* do tratamento em relação à testemunha, utilizando-se a seguinte fórmula:

$I = (C-T)/C \times 100$ , em que:

I = Percentagem de inibição;

C = Diâmetro do crescimento micelial da testemunha;

T = Diâmetro do crescimento micelial do tratamento.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de F, a 5 % de probabilidade, para o ensaio com pareamento; e, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade, para o ensaio de sensibilidade a produtos. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR 5.6 (Ferreira, 2014).

Além disso, para o ensaio de sensibilidade a produtos, foi realizada uma análise de regressão para cada produto e determinado o coeficiente de determinação ( $r^2$ ), a equação polinomial, determinando o valor da ED50 (dose efetiva mediana), ou seja, a concentração do produto, necessária para inibir em 50% o crescimento micelial fúngico (Edgington *et al.*, 1971). Em seguida, após cálculo da ED50, os produtos foram

classificados em quatro categorias de eficiência, segundo a escala de Edgington *et al.* (1971), em que:

- a) ED50 < 1 ppm: altamente eficiente (AE);
- b) ED50 1 - 10 ppm: moderadamente eficiente (ME);
- c) ED50 10 - 50 ppm: pouco eficiente (PE);
- d) ED50 > 50 ppm: ineficiente (I).

### **3.2 Ensaio *in vivo***

#### **3.2.1 Preparo dos inóculos**

A preparação do inóculo de *Pythium aphanidermatum* consistiu na utilização de culturas crescidas em meio BDA, que foram diluídas até se obter uma suspensão de  $1 \times 10^5$  zoósporos/mL. Posteriormente, foram adicionados 50 mL da suspensão do inóculo em cada vaso.

A suspensão de *Trichoderma* sp. foi preparada utilizando culturas crescidas em meio BDA até atingir a concentração de  $1 \times 10^8$  esporos/mL. A mesma concentração foi utilizada para o *Trichoderma harzianum*. Na utilização de ambos, foi adicionado 100 mL da suspensão em cada vaso referente ao tratamento.

#### **3.2.2 Experimento em casa de vegetação**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na UESB, em Vitória da Conquista-BA, com altitude de 874 metros acima do nível do mar e coordenadas geográficas: latitude 14°51'53" Sul e longitude 40°50'13" Oeste.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 8 x 2, com 4 repetições. Os tratamentos consistiram na aplicação dos seguintes produtos: C: controle com a presença de *Pythium aphanidermatum* sem aplicação de produtos, F: Fosfito de potássio, EM: Extrato de *Melaleuca alternifolia*, FA: fosetil-Al, BS: *Bacillus subtilis*, LS: *Lactobacilos plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, T: *Trichoderma* sp. e TH: *Trichoderma harzianum* (Tabela 1) e duas cultivares de coentro, Verdão e Americano Gigante.

Para a execução do experimento, foi realizada a esterilização do solo em autoclave (120 °C, 1 h, a 1,5 atm) por duas vezes, com intervalo de 24 horas.

Posteriormente o solo foi acondicionado em vasos, com capacidade de 2 L, e, em seguida, aplicados 100 mL dos produtos, com o uso de proveta. Após 24 horas, foi feita a inoculação do *Pythium* sp. com a suspensão previamente preparada com  $1 \times 10^5$  zoósporos/mL. No dia seguinte, realizou-se o plantio de 50 sementes por vaso. Os produtos referentes a cada tratamento foram aplicados a cada 7 dias até o final do ciclo da cultura (35 dias).

**Tabela 1** – Produtos utilizados no bioensaio de eficiência *in vitro* no controle de *Pythium aphanidermatum* em plantas de coentro

Ingrediente ativo	Classe	Tipo de formulação	Concentração do i.a
Fosfito de potássio	–	Suspensão concentrada	298 g/L
Fosetil-Al	Fungicida sistêmico	Pó Molhável	800 g/kg
<i>Bacillus subtilis</i>	Fungicida bactericida microbiológico	Suspensão Concentrada	13,68 g/L
<i>Lactobacilos plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	–	Suspensão homogênea	$10^4$ UFC/mL + $10^3$ UFC/mL
<i>Extrato de Melaleuca alternifolia</i>	Fungicida e bactericida de ação de contato e mesostêmica	Concentrado Emulsionável	222,5 g/L

### 3.2.2.1 Análise de solo

Para execução do experimento, foi coletada uma amostra de solo para realização da análise química e física (Tabela 2).

**Tabela 2** – Análise química e física do solo

pH	mg/dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> de solo								%	g/dm <sup>3</sup>	
H <sub>2</sub> O	P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H <sup>+</sup>	SB	t	T	V	m	MO
4,9	1	0,08	0,6	0,3	0,5	2,0	1,0	1,5	3,5	28	34	6
Argila		Silte		Areia		Classe textural						
g/Kg												
250		30		740		Franco Argilo Arenoso						

### 3.2.3 Características avaliadas

As variáveis: emergência (%), tombamento de pós-emergência (%) e incidência (%), foram avaliadas durante todo o experimento. Aos trinta e cinco dias após a semeadura, realizou-se a colheita, avaliando-se as seguintes características: altura de plantas (cm), comprimento de raiz (cm), massa fresca da parte aérea e da raiz (g), clorofila total (mg/m<sup>2</sup>), carotenoides (mg/m<sup>2</sup>), fotossíntese (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e transpiração (mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

#### 3.2.3.1 Emergência

A porcentagem de emergência de plântulas (%) foi calculada em relação ao número de sementes plantadas em cada parcela, por meio da seguinte fórmula:

$$\text{EME} = (\text{Plântulas emergidas no tratamento } t \times 100) / \text{Número de sementes plantadas}$$

#### 3.2.3.2 Tombamento de pós-emergência

Foi avaliada de acordo com o número de plantas tombadas (Figura 2) em relação ao número de plantas emergidas de cada parcela, por meio da seguinte fórmula:

$$\text{TPOS} = (\text{Plantas tombadas no tratamento } t \times 100) / \text{Número de plantas emergidas}$$



**Figura 2.** Plantas com sintomas de tombamento provocado por *Pythium aphanidermatum*.

### **3.2.3.3 Incidência**

A Incidência da doença foi determinada com base nas plantas que apresentaram sintomas, como tombamento, podridão de raiz e colo, com relação ao número de plantas emergidas em cada parcela, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{TPOS} = (\text{Plantas com sintomas no tratamento } t \times 100) / \text{Número de plantas emergidas}$$

### **3.2.3.4 Altura e comprimento de raiz**

A altura das plantas foi avaliada medindo-se da base, ou ponto de inserção do coleto, até a inserção da última folha em crescimento da planta, utilizando uma régua graduada por meio da qual foi avaliado também o comprimento de raiz, medindo-se do ponto de inserção do coleto até a extremidade final da raiz.

### **3.2.3.5 Massa fresca da parte aérea e raiz**

Para determinar a massa fresca da raiz e parte aérea, foi destacada a raiz da parte aérea no ponto de inserção do coleto e realizada a pesagem em balança de precisão, com quatro casas decimais.

### **3.2.3.6 Extração e quantificação de clorofila e carotenoides**

Foram retirados três discos (6 mm) do limbo da folha completamente expandida, em seguida, este material foi colocado em tubos revestidos com papel alumínio (para excluir luminosidade), contendo 4 mL de acetona 80% (v/v), e armazenados por 36 horas, para extração de clorofilas (a e b) e carotenoides (Hiscox e Israelstam, 1979). Os teores dos pigmentos fotossintéticos foram determinados por meio de leituras espectrofotométricas a 480, 646,8 e 663,8 nm, para as quantificações de clorofila total e carotenoides. Os resultados foram expressos em  $\text{mg m}^{-2}$ , de acordo com o método de Lee *et al.* (1987).

### 3.2.3.7 Trocas gasosas foliares

As trocas gasosas foram avaliadas em folhas completamente expandidas, com um sistema portátil de medição de fotossíntese Li-6400 XT (LI-COR Biosciences Inc., Nebraska, USA) (Figura 3). A taxa fotossintética ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração foram medidas entre 08h30min e 11h30min, sob luz saturante artificial de  $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e concentração atmosf\u00e9rica de  $\text{CO}_2$  ( $C_a$ ) de  $\pm 390 \mu\text{mol mol}^{-1}$ .



**Figura 3.** Avaliação de trocas gasosas em plantas de coentro.

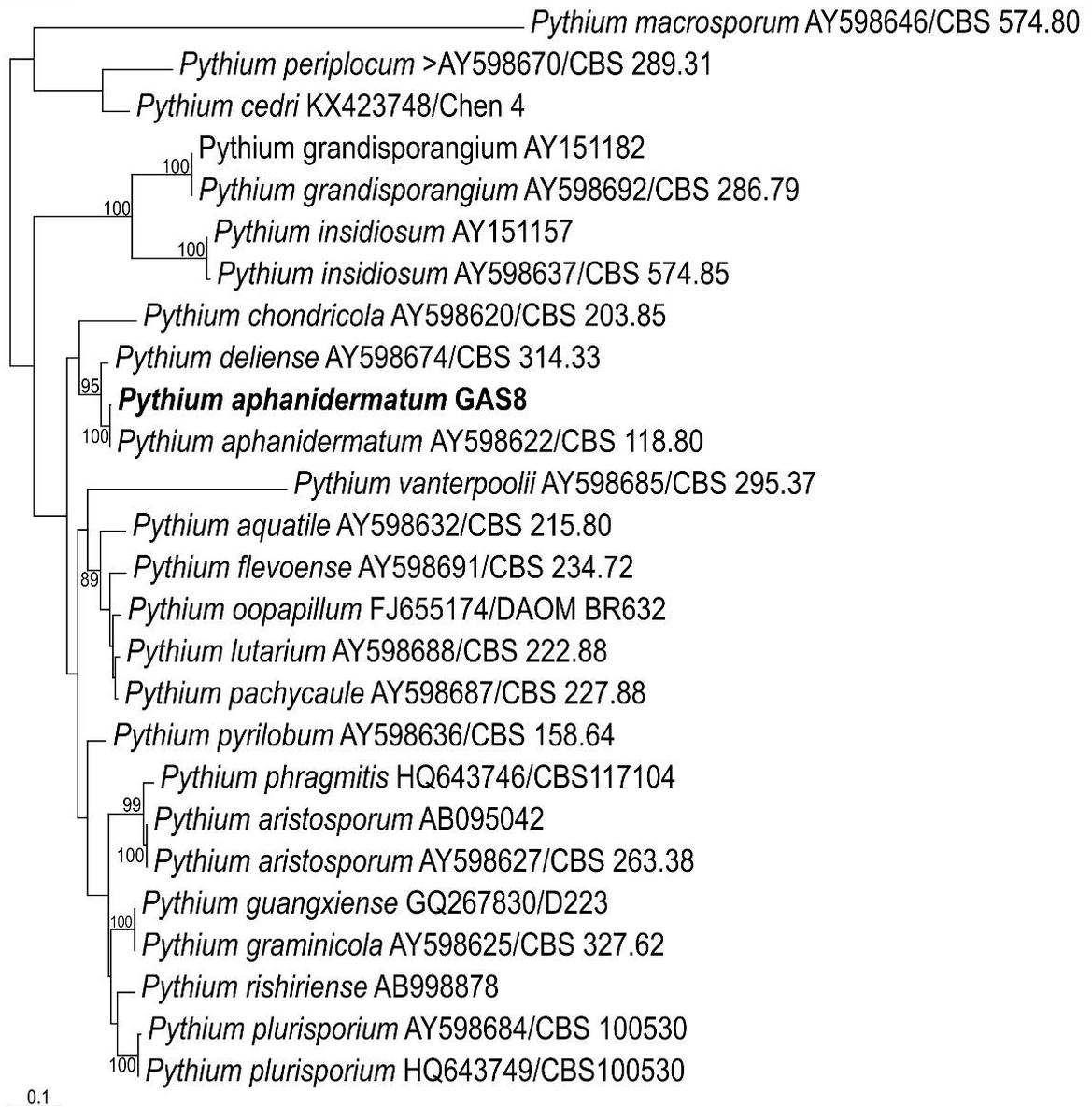
### 3.2.4 An\u00e1lise estat\u00edstica

Os resultados obtidos foram submetidos \u00e0 an\u00e1lise de vari\u00e2ncia e as m\u00e9dias dos tratamentos comparadas pelo teste de F, a 5 % de probabilidade, para a vari\u00e1vel percentual de emerg\u00eancia; e pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade, para as demais vari\u00e1veis. Foi utilizado o programa estat\u00edstico SISVAR 5.6 (Ferreira, 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSS\u00c3O

#### 4.1 Caracterização molecular

A detecção e o diagnóstico de patógenos têm um papel vital na correlação de fatores epidemiológicos com as espécies envolvidas na disseminação da doença. A análise molecular, utilizando os genes ITS1 e ITS4, permitiu identificar o isolado como *Pythium aphanidermatum*. As sequências obtidas, para ambos os genes, foram utilizadas para construção de uma árvore filogenética (Figura 4).



**Figura 4.** Árvore filogenética com sequência do isolado de *Pythium* sp. considerando as regiões genômicas ITS1 e ITS4.

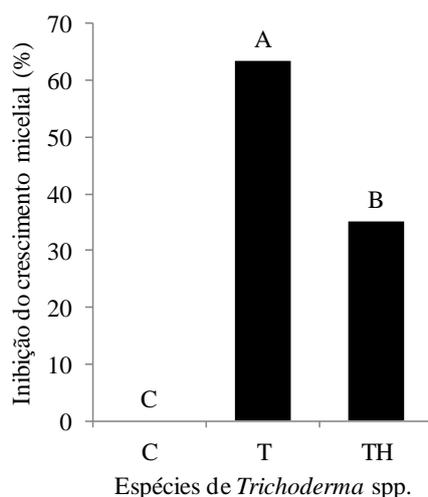
Ao comparar as sequências obtidas com as sequências depositadas no *GenBank*, utilizando a ferramenta BLASTn, o isolado demonstrou 100% de identidade com outros isolados de *P. aphanidermatum*.

Esse é o primeiro relato de *P. aphanidermatum*, causando tombamento de plântulas de coentro no Brasil e no mundo. Contudo, espécies como *Pythium ultimum*, *Pythium dissotocum* e *Globisporangium irregulare* já foram relatadas causando *damping-off* em plantas de coentro na Itália, Porto Rico e Brasil (Garibaldi *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2012; Infante *et al.*, 2018).

O *P. aphanidermatum* é relatado em plantas de diversas famílias, como Alliaceae, Apiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae e Solanaceae (Van Der Plaats-Niterink, 1981; Farr e Rossman, 2020). Dessa forma, devido à ampla gama de hospedeiros, dificulta a adoção de rotação de cultura como método de manejo.

#### 4.2 Antagonismo por *Trichoderma* spp.

O pareamento das espécies de *Trichoderma* (*Trichoderma* sp. e *T. harzianum*) demonstrou efeito antagônico sobre o crescimento micelial do isolado de *Pythium aphanidermatum* (Figura 5). A inibição do crescimento micelial foi de 63,33 e 35,11% para *Trichoderma* sp. e *Trichoderma harzianum*, respectivamente.



**Figura 5.** Pareamento antagônico em meio de cultura BDA de *Trichoderma* spp. contra isolado de *Pythium aphanidermatum*. C- Controle, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*.

Em ensaios *in vitro*, isolados de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* e três de *T. virens* demonstraram capacidade de suprimir o crescimento micelial de *P. aphanidermatum* (Elshahawy e El-Mohamedy, 2019). O micoparasitismo (penetração e infecção) é um fator que contribui para o antagonismo, proporcionando uma competição por espaço e nutrientes (Verma *et al.*, 2007). A capacidade dos conídios de isolados de *Trichoderma* de inibir a germinação de zoósporos de *P. aphanidermatum* já foi demonstrada por Elshahawy e El-Mohamedy (2019).

Outra forma de ação de inibição está relacionada à produção de compostos (Tchameni *et al.*, 2020). Metabólitos voláteis e não voláteis de *Trichoderma harzianum* foram capazes de inibir 65,6 e 69,3%, respectivamente, o crescimento micelial de *Pyhtium ultimum* (Boat *et al.*, 2019). A capacidade para produzir tais substâncias e o seu efeito fungicida pode variar entre espécies e entre isolados da mesma espécie (Martins-Corder e Melo, 1998). Neste trabalho, foi possível observar resultados positivos no controle da inibição com a utilização de espécies de *Trichoderma*, com inibição variando de 21,1 a 69,3%.

### **4.3 Sensibilidade a produtos químicos**

O crescimento micelial foi reduzido na presença de todos os produtos, independente do princípio ativo utilizado. Contudo, a resposta de sensibilidade variou de acordo com o produto testado.

Foi possível observar que, na concentração de 1 ppm, todos os produtos tiveram uma baixa eficiência de controle no crescimento micelial do *P. aphanidermatum* (Tabela 3). A inibição significativa do crescimento micelial deste patógeno ocorreu a partir de 10 ppm para *Bacillus subtilis*; 100 ppm para Fosfito de potássio e fosetil-Al; 500 e 1000 ppm para extrato de *Melaleuca alternifolia* e *L. plantarum* + *S. cerevisiae*, respectivamente.

Na concentração de 1000 ppm, normalmente utilizada em condições de campo, o *L. plantarum* + *S. cerevisiae* exibiu os menores valores de percentagem de inibição do crescimento micelial, com 37,8%. Já o *Bacillus subtilis* e o fosetil-Al exibiram maior percentual de inibição do crescimento micelial, com 92,2 e 91,1 %.

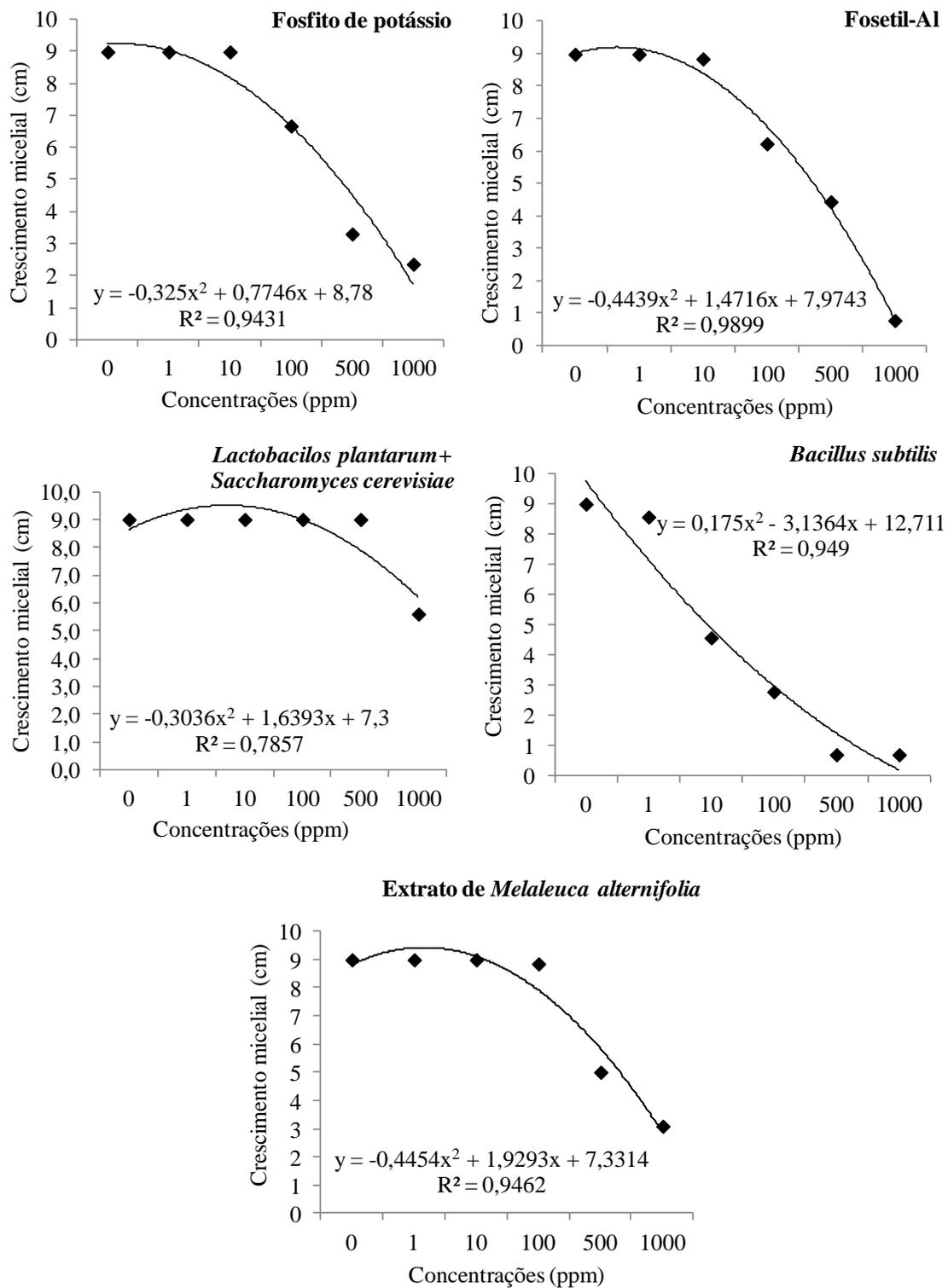
**Tabela 3** – Inibição do crescimento micelial de *Pythium aphanidermatum* a diferentes produtos e concentrações

Produtos	Concentração (ppm)					
	0	1	10	100	500	1000
Fosfito de potássio	9,0(0,0)*Aa**	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	6,7(25,7)Bb	3,3(63,2)Dc	2,4(73,7)Cd
Fosetil-Al	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	8,9(1,6)Aa	6,2(30,6)Cb	4,5(50,5)Cc	0,8(91,1)Dd
<i>Lactobacilos plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	5,6(37,8)Ab
<i>Bacillus subtilis</i>	9,0(0,0)Aa	8,6(4,8)Ab	4,6(49,2)Bc	2,8(69,0)Dd	0,7(92,2)Ee	0,7(92,2)De
Extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i>	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	9,0(0,0)Aa	8,9(1,6)Aa	5,0(44,3)Bb	3,1(65,3)Bc
CV%	5,73					

\* Crescimento radial (cm) após 2 dias de incubação. Valores entre parêntesis indicam a percentagem de inibição do crescimento micelial comparado ao valor da testemunha.

\*\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade.

Na Figura 6, estão representadas as análises de regressão e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) dos produtos utilizados. Com a equação polinomial obtida, foi calculado o valor da dose efetiva mediana (ED50), tendo, assim, a eficiência de cada produto (Tabela 4). Todos os produtos mostraram moderada eficiência, exceto o *Bacillus subtilis*, que foi considerado pouco eficiente. Os resultados demonstraram efeito significativo entre as concentrações dos produtos e o crescimento micelial. À medida que houve aumento das concentrações, ocorreu uma maior redução do crescimento micelial do *Pythium aphanidermatum*.



**Figura 6.** Regressão polinomial no efeito de diferentes concentrações de produtos na inibição do crescimento micelial de *Pythium aphanidermatum*.

**Tabela 4** – Equação de regressão, dose efetiva mediana (ED50) e eficiência de produtos químicos, estimadas pela análise de regressão das médias do crescimento micelial de *P. aphanidermatum*

Produtos	Equação de regressão	ED <sub>50</sub>	E <sup>1</sup>
Fosetil-Al	$y = -0,4439x^2 + 1,4716x + 7,9743$	4,91	ME
Fosfito de potássio	$y = -0,325x^2 + 0,7746x + 8,78$	5,01	ME
<i>Bacillus subtilis</i>	$y = 0,175x^2 - 3,1364x + 12,711$	14,74	PE
<i>Lactobacilos plantarum</i> + <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$y = -0,3036x^2 + 1,6393x + 7,3$	6,78	ME
Extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i>	$y = -0,4454x^2 + 1,9293x + 7,3314$	5,49	ME

<sup>1</sup>Eficiência dos produtos químicos sobre *Pythium aphanidermatum*. ME (moderadamente eficiente), PE (pouco eficiente).

Visando o controle de *Pythium* sp., Santos *et al.* (2018) testaram diferentes fontes de fosfito, o fosfito de potássio, cobre e manganês em diferentes concentrações. Como resultado observaram eficácia de todos os produtos, inibindo em até 100% o crescimento micelial. A eficiência é devido ao ácido fosforoso que possui propriedades sanitárias, com atividade fungicida, atuando sobre os fungos ou na ativação de mecanismo de defesa das plantas, induzindo a produção de fitoalexinas (Reuveni, 1997).

Na Carolina do Norte, danos causados por *Pythium aphanidermatum* em poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Kotzch) fez com que Lookabaugh *et al.* (2021) buscassem métodos de controle para essa doença. Neste trabalho, em testes realizados *in vitro*, o fosetil-Al inibiu completamente o crescimento micelial do *P. aphanidermatum*. A supressão do crescimento micelial dentro do tecido do hospedeiro torna-se importante, no intuito de minimizar os efeitos da doença após a infecção (Matheron e Porchas, 2000). Resultados semelhantes foram obtidos neste trabalho com uma inibição de 91,1% do crescimento micelial.

Os resultados positivos de *Bacillus subtilis*, na inibição do crescimento micelial em até 92,2%, deve-se à atuação como fungicida, com vários modos de ação. De forma antagônica, associada à produção de metabólitos com propriedades antibióticas, desempenham um papel importante na ativação dos mecanismos de defesa das plantas, desencadeando nestas a resistência sistêmica induzida (ISR) (Compant *et al.*, 2005); e ativando também as respostas de defesa do hospedeiro por várias espécies de *Bacillus* (Zalila-Kolsi *et al.*, 2016). Além disso, os Lipopeptídeos que são produzidos agem na

membrana celular das estruturas reprodutivas do fungo, provocando sua deformação e rupturas, proporcionando, assim, resultados positivos na inibição do crescimento micelial (Silveira *et al.*, 2020).

O extrato de *Melaleuca alternifolia* proporcionou uma inibição no crescimento micelial de 65,3%, estando associado à atividade antimicrobiana, em que os terpenos hidrofóbicos interagem fortemente com os lipídios da membrana dos microrganismos e afetam a permeabilidade da membrana, provocando, posteriormente, a sua morte (Cox *et al.*, 2001).

#### 4.4 Efeito de produtos no controle do *Pythium aphanidermatum* em variedades comerciais de coentro

##### 4.4.1 Análises morfológicas

Houve efeito isolado dos fatores, variedades e produtos, para a porcentagem de emergência (Tabela 5). A variável tombamento de pós-emergência foi influenciada apenas pelo fator produtos; para incidência da doença, houve interação entre variedades e produtos.

**Tabela 5** – Resumo da análise de variância e coeficientes de variação das variáveis percentual de emergência (EME), percentual de tombamento de pós-emergência (TPOS) e incidência (INC) em plantas de coentro inoculadas com *Pythium aphanidermatum*

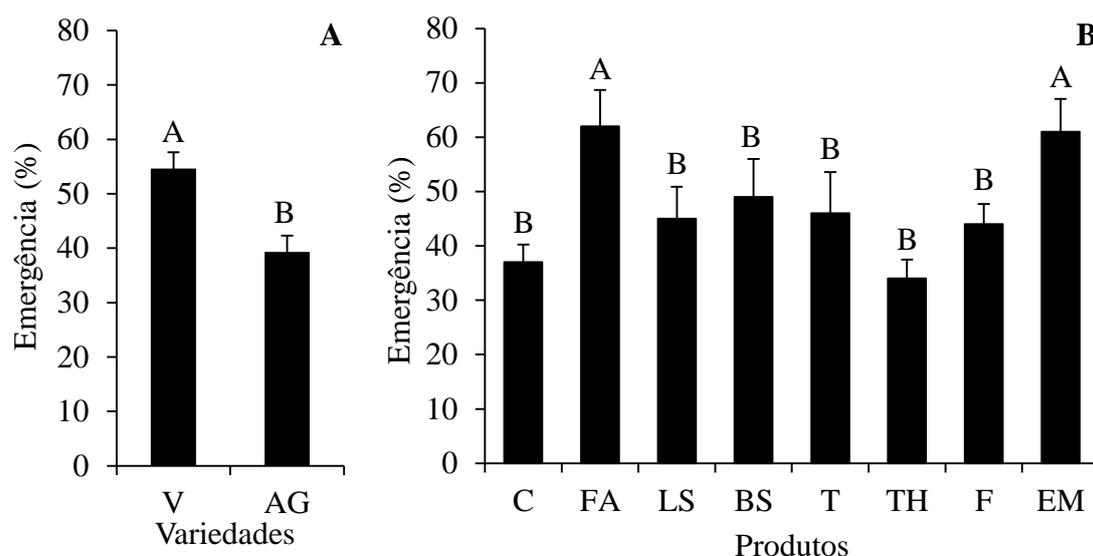
Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		EME	TPOS	INC
Variedades (V)	1	3751,5625*	39,2189	55,950
Produtos (P)	7	821,777*	1032,460*	1014,335*
Bloco	3	58,062	966,741*	1356,950*
V x P	7	195,563	420,493	560,665*
Resíduo	45	203,396	206,755	243,023
CV%		30,36	33,20	34,24

\*Significativo ( $p < 0,05$ ).

A variedade Verdão exibiu porcentagem de emergência 15,31% superior à variedade Americano Gigante (Figura 7A). Tais resultados condizem com testes de germinação prévios realizados em laboratório.

Os tratamentos com fosetil-Al e extrato de *Melaleuca alternifolia* promoveram as maiores porcentagens de emergência, com 62 e 60,5%, respectivamente (Figura 7B), representando um aumento de 30% na taxa de emergência, quando comparado ao tratamento controle.

Além de estar associada ao vigor das sementes, valores reduzidos de porcentagem de emergência podem estar relacionados à capacidade do *Pythium* provocar o tombamento das plântulas antes destas emergirem. Em plântulas de pimenta inoculadas com *P. aphanidermatum*, Muthukumar *et al.* (2010) obtiveram um percentual de até 30,3% de tombamento de pré-emergência, devido aos danos provocados no sistema radicular das plântulas.



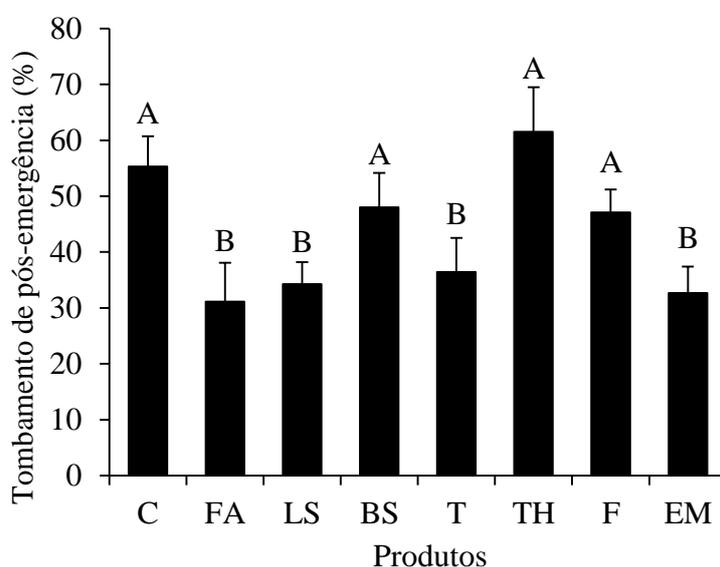
**Figura 7.** Emergência de plantas de coentro em função de variedades, Verdão (V) e Americano Gigante (AG) (A), e produtos aplicados (B). C- controle, FA- fosetil-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfite de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Médias seguidas pela mesma letra entre os tratamentos não diferem entre si pelo de F e Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

O tombamento de pós-emergência (Tabela 5) não diferiu entre as variedades. Em função da aplicação dos produtos, verificou-se maior tombamento de pós-

emergência no *Trichoderma harzianum*, controle, *Bacillus subtilis* e fosfito de potássio, com valores de 61,53, 55,33, 48,00 e 47,12%, respectivamente (Figura 8).

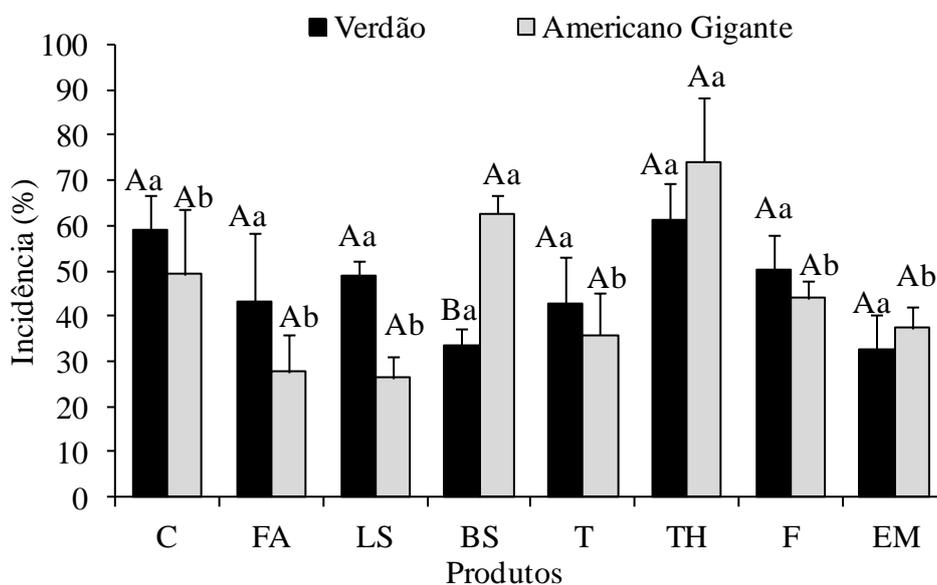
O tombamento é um sintoma típico ocasionado por *Pythium*, devido à ocorrência de podridão da raiz e do coleto, que resulta em murcha, tombamento e posterior morte das plantas infectadas. Em estudos realizados com 15 espécies de *Pythium*, Rajagopalan (1961) verificou que a espécie *P. aphanidermatum* causou de 75 a 80% de tombamento em plantas de tomate e pimenta, sendo considerada a espécie com maior virulência, quando comparada às demais estudadas.

Em plantas de pepino inoculadas com *Pythium ultimum*, aplicações de fosfito de potássio reduziram os sintomas de tombamento, contribuindo para o aumento da massa fresca e seca de parte aérea e raiz (Mofidnakhai *et al.*, 2016). Esses resultados foram progressivos à medida que se aumentou a concentração de fosfito de potássio utilizada. Dessa forma, o fato do fosfito de potássio não ter sido eficiente no controle do tombamento causado por *P. aphanidermatum* pode estar relacionado à concentração utilizada. Por outro lado, a aplicação de fosetil-Al, *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma* sp., e extrato de *Melaleuca alternifolia* foram eficientes na redução do tombamento causado por *P. aphanidermatum*.



**Figura 8.** Tombamento de pós-emergência de plantas de coentro (TPOS) submetidas a diferentes produtos e espécies de *Trichoderma*. C- controle, FA- fosetil-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Médias seguidas pela mesma letra entre os tratamentos não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Para a variedade Verdão, a incidência de *P. aphanidermatum* foi similar entre os tratamentos (Figura 9). Já para a variedade Americano Gigante, verifica-se maiores incidências sob aplicação de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*, que exibiram 74,13 e 62,62% de incidência, respectivamente.



**Figura 9.** Incidência em plantas de coentro (INC) submetidas a diferentes produtos e espécies de *Trichoderma*. C- controle, FA- foseetil-Al, LS- *Lactobacilos plantarum*+ *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Apesar do tratamento com *Trichoderma harzianum* não ter sido eficiente na redução da incidência de *Pythium aphanidermatum* e do tombamento de plântulas, vários trabalhos têm demonstrado que a utilização de microrganismos deste gênero podem reduzir a severidade de doenças causadas por Oomicetos. Em plantas de cúrcuma, um isolado de *T. harzianum* (TharDOB-31) suprimiu a incidência da doença de podridão do rizoma e queima das folhas causada por *P. aphanidermatum*, resultando em aumento de produtividade em comparação com o controle não tratado (Vinayarani *et al.*, 2018). Esses autores também verificaram a ocorrência de parasitismo, em que o isolado TharDOB-31 ocasionou enrugamento, quebra e lise das hifas do patógeno.

Uma alternativa para aumentar a eficiência de produtos biológicos é a utilização do tratamento de sementes. O plantio de sementes de tomate, revestidas com *B. subtilis*

e *Trichoderma* spp., resultou em uma redução significativa na porcentagem de tombamento de pré e pós-emergência em comparação com o tratamento com sementes não revestidas, plantadas em meio inoculado com *P. aphanidermatum* e *P. debaryanum* (Kipngeno *et al.*, 2015; Salem e Abdelrahman, 2021).

Os resultados variáveis para os microrganismos utilizados neste estudo podem estar relacionados à capacidade destes em colonizar a planta, sendo que, quanto mais rápida for a colonização, maiores serão as chances de sucesso no controle do patógeno (Mehetre e Kale, 2011; Lara-Capistran *et al.*, 2020). Stephan *et al.* (2005) relataram que, ao empregar uma associação de aplicação preventiva e curativa do controle biológico, obtiveram um efeito melhor do que apenas uma aplicação curativa, o que, provavelmente, deve-se à necessidade de estabelecimento do microrganismo benéfico no agroecossistema, antes de se tornar eficaz no controle do patógeno.

Além disso, a eficiência de agentes de controle biológico também é influenciada pela textura das sementes e características fisiológicas da planta (Pandey *et al.*, 2005). Para potencializar a eficiência de controle, alguns estudos têm explorado a utilização de uma combinação de isolados do microrganismo benéfico. Como exemplo, tem-se que, em um cultivo de tomate, a combinação de cinco isolados de *Trichoderma* spp. proporcionou aumento de 87,5% na sobrevivência das plantas (Elshahawy e El-Mohamedy, 2019).

#### 4.4.2 Características relacionadas ao crescimento

Para as características altura de plantas, comprimento de raiz, massa fresca de parte aérea e raiz, houve efeito da interação entre variedades e produtos (Tabela 6).

**Tabela 6** – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação das variáveis altura de plantas (ALT), comprimento de raiz (CR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR) em plantas de coentro inoculadas com *Pythium aphanidermatum*

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		ALT	CR	MFPA	MFR
Variedades (V)	1	159,770*	80,438*	391,743*	13,514*
Produtos (P)	7	23,697*	43,818*	51,970*	2,222*
Bloco	3	5,201	3,975	4,053	0,849

V x P	7	7,576*	17,270*	41,015*	1,621*
Resíduo	45	2,606	3,961	7,489	0,324
CV%		24,36	25,87	60,90	73,34

O crescimento da raiz, tanto vertical como lateralmente, aumenta a área da rizosfera da planta e, conseqüentemente, a capacidade de absorção de água e nutrientes, importantes para o desenvolvimento desta.

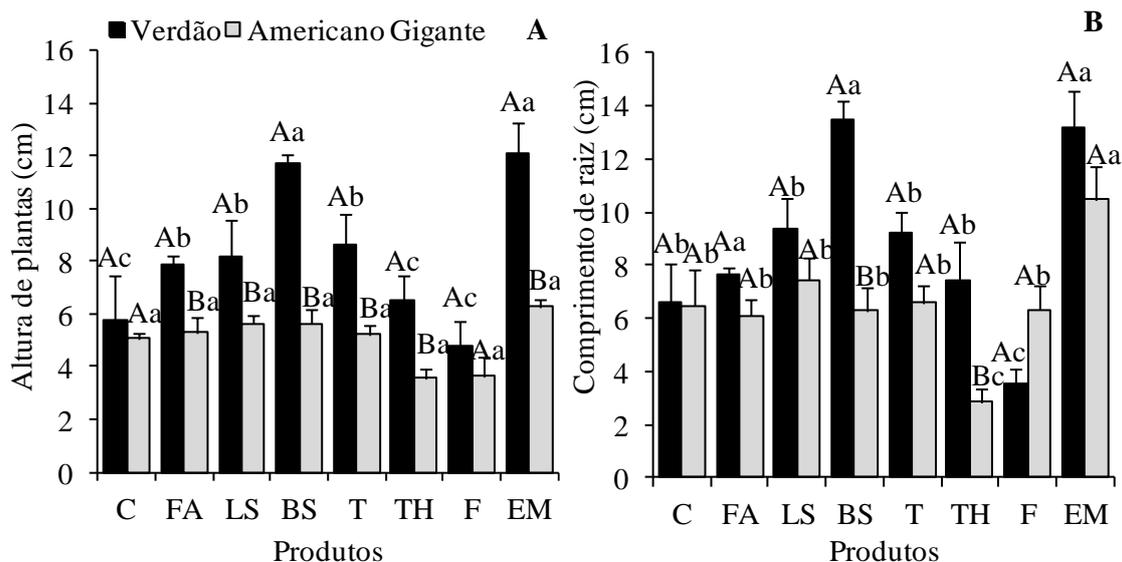
Para a variedade Verdão, a aplicação de *Bacillus subtilis* e extrato de *Melaleuca alternifolia* proporcionaram maior crescimento e massa fresca de raiz, resultando em melhor desenvolvimento do sistema radicular das plantas (Figura 10 e 11). Para a variedade Americano Gigante, os tratamentos não influenciaram a massa fresca de raiz, no entanto, verifica-se maior crescimento radicular sob aplicação de *M. alternifolia*.

A aplicação de *T. harzianum* e fosfito de potássio resultou em redução do crescimento radicular de plantas das variedades Americano Gigante e Verdão, respectivamente.

O menor desenvolvimento de CR, quando utilizado o fosfito de potássio, pode ser atribuído ao fato de que o fosfito é reconhecido como um composto fitotóxico que, quando utilizado em altas dosagens, causa inibição do crescimento de plantas (Achary *et al.*, 2017).

Além disso, o pH do solo influencia no desenvolvimento das plantas, pois afeta em muitos aspectos da absorção de nutrientes (Msimbira e Smith, 2020). É necessário considerar esse aspecto, pois o pH do solo utilizado no experimento foi de 4,9 e a adição semanal de fosfito de potássio pode possibilitar a acidificação do solo (Pahalvi *et al.*, 2021). Em solos ácidos, as plantas sofrem com toxicidade de alumínio, manganês e hidrogênio, que inibem a captação de nutrientes e o crescimento das plantas (Bojórquez-Quintal *et al.*, 2017).

Sob aplicação de fosetil-Al, *Bacillus subtilis*, extrato de *Melaleuca alternifolia* e *Trichoderma* sp., a variedade Verdão exibiu maior MFR que a Americano Gigante, maior crescimento radicular sob aplicação de *B. subtilis* e *T. harzianum* também foram verificados para esta variedade.



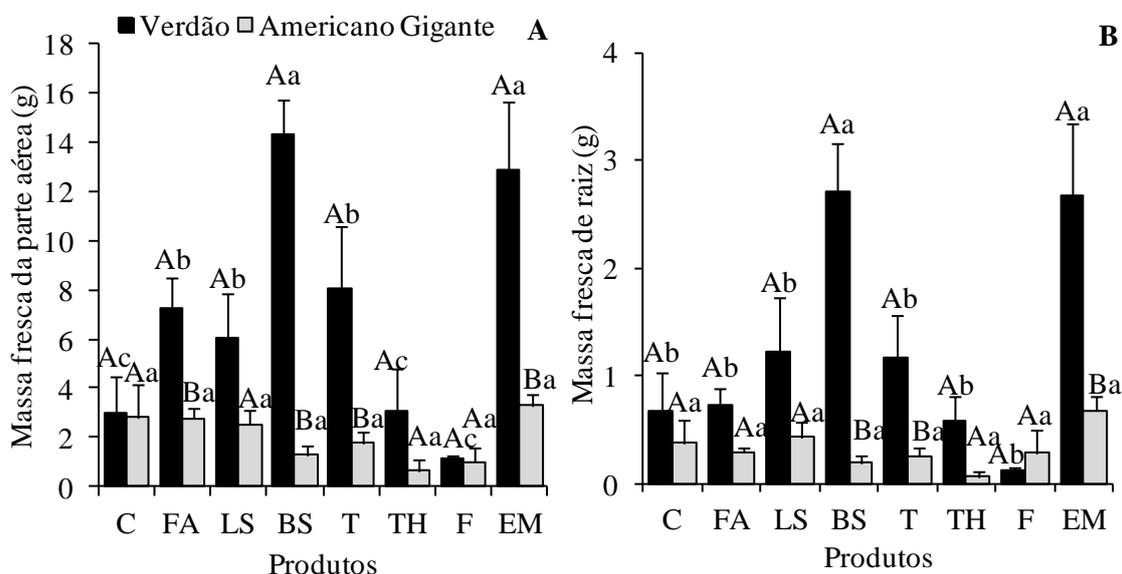
**Figura 10.** Altura de plantas (A) e comprimento de raiz (B) de plantas de coentro submetidas a diferentes produtos e espécies de *Trichoderma*. C- controle, FA- fosetil-Al, LS- *Lactobacilos plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Os resultados positivos obtidos com a utilização do extrato de *Melaleuca alternifolia* devem-se ao seu efeito fungicida e bactericida de ação de contato e mesostêmica (Arroyo e Henríquez, 2015). O seu modo de ação envolve a perda da integridade da membrana, sendo tanto a membrana plasmática como a mitocondrial intensamente afetadas (Carson *et al.*, 2006; Shao *et al.*, 2013). Além disso, pode ocorrer a inibição da respiração celular, pois a possibilidade é que o extrato de *M.alternifolia* atue diretamente em enzimas respiratórias (Cox *et al.*, 2001).

Para a variedade Verdão, a aplicação de *Bacillus subtilis* e extrato de *M. alternifolia* proporcionaram maior altura e massa fresca da parte aérea das plantas (Figura 10 e 11), estando relacionado ao controle eficiente de *Pythium aphanidermatum* e à redução de seus efeitos nocivos ao desenvolvimento radicular das plantas. Estes produtos se encontram entre os que proporcionaram maior promoção do sistema radicular, tanto para massa fresca, quanto para o comprimento de raiz, o que possibilita maior absorção de água e nutrientes e resulta em maior crescimento das plantas.

Para a variedade Americano Gigante, os tratamentos não influenciaram a massa, a altura de plantas e massa fresca da parte aérea, sendo similares ao tratamento controle. Nos tratamentos *Bacillus subtilis*, fosetil-Al, extrato de *M. alternifolia* e *Trichoderma*

sp., plantas da variedade Verdão exibiram maior massa fresca da parte aérea em relação à Americano Gigante. Estes mesmos produtos, juntamente com o *L. plantarum* + *S.cerevisiae* e o *Trichoderma harzianum*, mostram maior altura de plantas para a Verdão, quando comparada à Americano Gigante.



**Figura 11.** Massa fresca de parte aérea (A) e Massa fresca de raiz (B) e de plantas de coentro variedades Verdão e Americano Gigante. C- controle, FA- fosepil-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.3 Variáveis fisiológicas

Houve efeito da interação entre variedades e produtos para os teores de clorofila total e carotenoides, fotossíntese (A), condutância estomática ( $g_s$ ) e transpiração (E) e relação Ci/Ca (Tabela 7).

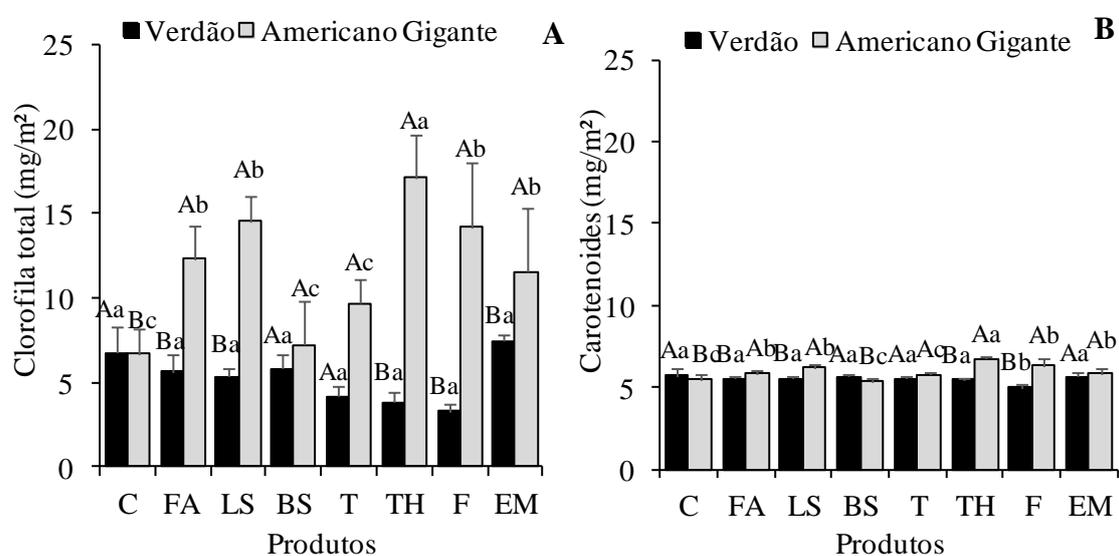
**Tabela 7** – Resumo da análise de variância e coeficiente de variação (CV) da clorofila total ( $Chl_{Total}$ ), carotenoides (Car), fotossíntese (A), condutância estomática ( $g_s$ ) e taxa transpiratória (E) em plantas de coentro inoculadas com *Pythium aphanidermatum*

Fonte de variação	GL	Quadrado médio					
		$Chl_{Total}$	Car	A	$g_s$	E	Ci/Ca
Variedades (V)	1	682,972*	3,217*	1,295	0,508*	24,200*	0,170017*

Produtos (P)	7	75,448*	0,868*	148,689*	0,101*	6,257*	0,011357*
Bloco	3	17,384	0,538*	0,009	0,004	0,001	0,003867
V x P	7	100,177*	1,574*	81,053*	0,097*	5,5835*	0,035526*
Resíduo	45	6,566	0,168	7,615	0,012	0,884	0,003746*
CV%		30,56	7,18	22,83	37,89	31,13	7,99

#### 4.4.3.1 Pigmentos fotossintéticos

Para a variedade Verdão, não houve diferenças nos teores de clorofila total em função dos tratamentos e, no geral, seus teores foram inferiores aos da cultivar Americano Gigante, exceto nos tratamentos controle e sob aplicação de *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. Quanto aos teores de carotenoides, verifica-se valores reduzidos sob aplicação de fosfito de potássio, quando comparado aos demais tratamentos. Para a variedade Americano Gigante, a aplicação de *Trichoderma harzianum* resultou em maiores teores de clorofila total e carotenoides (Figura 12).



**Figura 12.** Teores de clorofila total (A) e carotenoides (B) em folhas de coentro submetidas a diferentes produtos e espécies de *Trichoderma*. C- controle, FA- fosfite-Al, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfite de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada produto pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos em cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

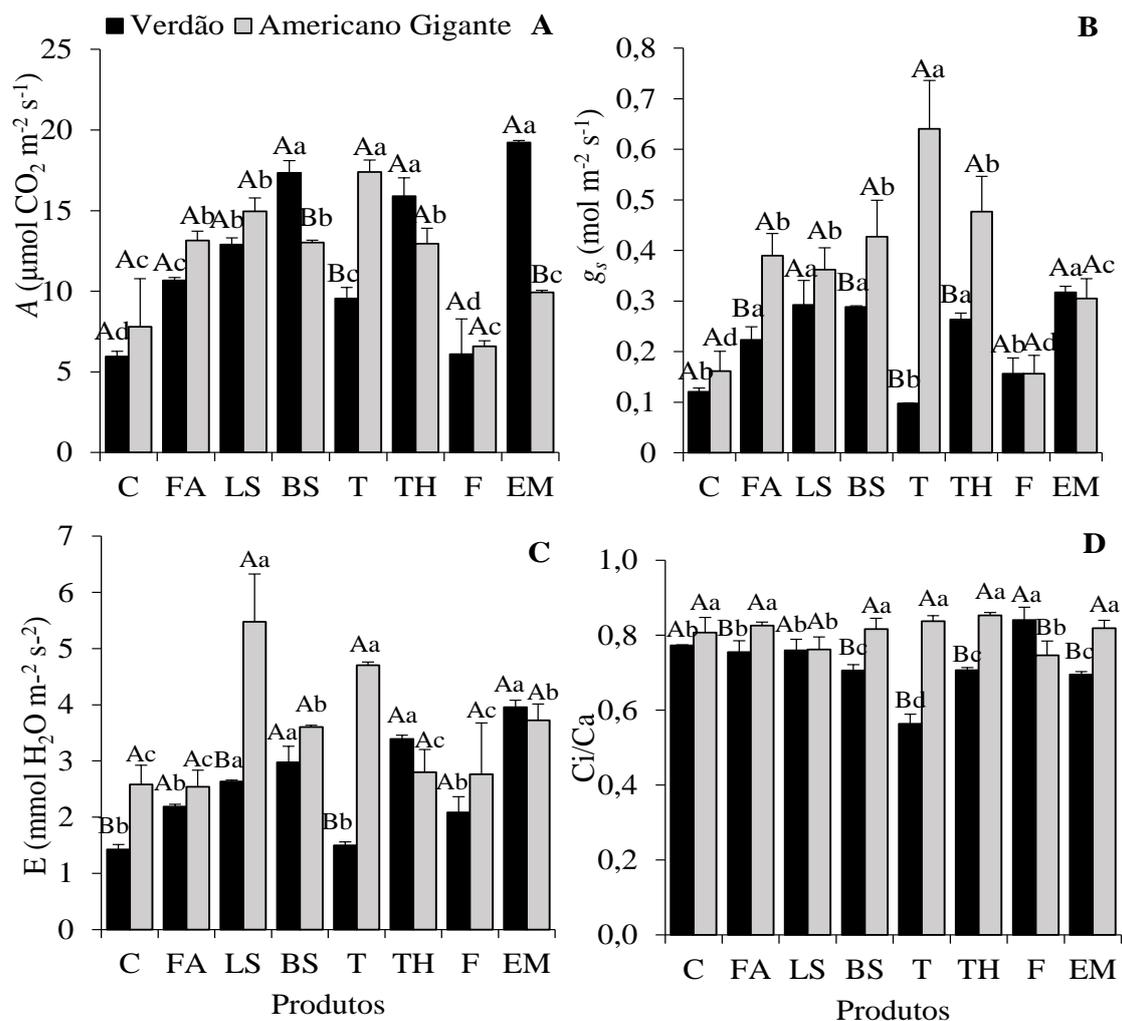
Reduções nos teores de pigmentos fotossintéticos têm sido relatadas em plantas atacadas por patógenos, como em resultados obtidos por Siddiqui *et al.* (2021), os quais observaram que as plantas de *Luffa cylindrica*, submetidas a *Pythium aphanidermatum*, exibiram resultados inferiores, quando comparadas às plantas submetidas ao controle com *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces variotii* e *Bacillus subtilis*. Essa redução pode estar relacionada ao aumento na atividade de certas enzimas, como a clorofilase, em resposta à infecção pelo patógeno (Javaid *et al.*, 2017).

Os pigmentos são importantes para a fotossíntese, pois estão envolvidos na produção de ATP, NADPH e carboidratos que são utilizados para a síntese de muitos compostos importantes, como metabólitos primários, hormônios relacionados à defesa, ácido abscísico, etileno, entre outros (Lu e Yao, 2018). Portanto, uma concentração adequada de pigmentos fotossintéticos nas células vegetais, além promover a integridade da membrana plasmática, é importante para a manutenção da fotossíntese (Matsuda *et al.*, 2004).

#### **4.4.3.2 Trocas gasosas foliares**

Para a variedade Verdão, plantas submetidas à aplicação de *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* e extrato de *M. alternifolia* exibiram maior taxa fotossintética, quando comparadas aos demais tratamentos. A aplicação de *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, fosetil-Al e *Trichoderma* sp. resultou em valores superiores à testemunha; enquanto que com a aplicação de fosfito de potássio, não diferiram entre si (Figura 13A).

Para a variedade Americano Gigante, a aplicação de *Trichoderma* sp. resultou em maior taxa fotossintética e condutância estomática. Tratamentos com aplicação de fosetil-Al, *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma harzianum* revelaram valores similares entre si e superiores aos tratamentos testemunha, fosfito de potássio e *M. alternifolia*, que não diferiram entre si.



**Figura 13.** Taxa fotossintética (A) [A], condutância estomática ( $g_s$ ) [B], transpiração (E) [C] e relação Ci/Ca [D] de coentro. C- controle, FA- fosetil-AI, LS- *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, BS- *Bacillus subtilis*, T- *Trichoderma* sp., TH- *Trichoderma harzianum*, F- fosfito de potássio, EM- extrato de *Melaleuca alternifolia*. Letras maiúsculas indicam comparação entre as variedades dentro de cada tratamento pelo teste F e letras minúsculas comparação entre os produtos para cada variedade pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Em geral, os valores reduzidos de fotossíntese foram precedidos de redução na condutância estomática, e podem estar relacionados a alterações no processo de assimilação do  $\text{CO}_2$ , tendo em vista que os valores da relação Ci/Ca foram superiores aos tratamentos com maior taxa fotossintética. Por outro lado, para a variedade Verdão, os efeitos negativos da aplicação de *Trichoderma* sp. sobre as trocas gasosas, possivelmente, estão relacionados à limitação do influxo de  $\text{CO}_2$ , promovida pelo fechamento estomático, que resultou em redução da relação Ci/Ca e da taxa fotossintética.

A redução na taxa fotossintética em plantas atacadas por patógenos de solo já foi relatada em outros trabalhos, como em plantas de faia infectadas por *Phytophthora*

*criticola* (Fleischmann *et al.*, 2005) e de abacate por *Phytophthora cinnamomi* (Ploetz e Schaffer, 1987). Ao colonizarem o sistema radicular, esses patógenos reduzem o fluxo de água para as folhas, interferindo no metabolismo fotossintético e, conseqüentemente, no crescimento das plantas (Johnstone *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2018). Contudo, as plantas podem se apresentar fotossinteticamente ativas, mesmo sob infecção por *Pythium* (Anova *et al.*, 2011).

Em plantas de milho, a inoculação com *T. harzianum* promoveu aumento da taxa fotossintética e do crescimento das plantas. O maior crescimento das plantas foi atribuído à regulação positiva da fotossíntese e ao maior acúmulo de amido, proporcionados pela colonização radicular do *Trichoderma* (Shoreshe Harman, 2008). Neste estudo, apesar da aplicação de *Trichoderma harzianum* e do *Trichoderma* sp. promoverem aumento da fotossíntese em plantas das variedades Verdão e Americano, respectivamente, eles não promoveram o crescimento de plantas. Para *T. harzianum*, este resultado pode ser explicado pela sua baixa eficiência no controle de *P. aphanidermatum*.

Para a variedade Verdão, menores valores de  $g_s$  foram verificados em plantas controle e sob aplicação de *Trichoderma* sp. e fosfito de potássio (Figura 13B). No entanto, para a variedade Americano Gigante, a aplicação de *Trichoderma* sp. resultou em maior  $g_s$  ( $0,64 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ); e menores valores foram verificados nas plantas controle ( $0,16 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e sob aplicação de fosfito de potássio ( $0,16 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

A redução da  $g_s$  em plantas infectadas por *P. aphanidermatum* pode ser associada aos danos que o patógeno ocasiona ao sistema radicular, resultando em limitação na absorção de água pelas raízes e redução no teor de água na folha, levando, conseqüentemente, ao fechamento estomático (Johnstone *et al.*, 2005; Sutton *et al.*, 2006).

Diferenças significativas foram verificadas para a taxa de transpiração ( $E$ ) entre as variedades (Figura 13C). A variedade Americano Gigante exibiu uma  $E$  cerca de 71,56% maior que a Verdão. Essas diferenças foram verificadas nas plantas-controle, sob aplicação de *Trichoderma* sp. e *L. plantarum* + *S. cerevisiae* com valores de 2,28, 4,70, 5,48  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-2}$ , respectivamente, na variedade Americano Gigante.

A transpiração é um processo importante no balanço hídrico da planta que, em excesso, pode comprometer a disponibilidade de água para os processos vitais, principalmente em situações em que a quantidade de água disponível é reduzida. Como

mecanismo de defesa, a fim de se evitar perdas de água, as plantas tendem a fechar os estômatos, diminuindo, assim, a taxa de transpiração (Warren *et al.*, 2011).

Para a variedade Verdão, os maiores valores de  $E$  foram observados, quando se utilizou extrato de *M. alternifolia*, *T. harzianum*, *B. subtilis* e *L. plantarum* + *S. cerevisiae*, que exibiram valores de 3,96, 3,39, 2,97 e 2,64 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-2</sup>, respectivamente. Para Americano Gigante, os maiores valores de  $E$  foram obtidos sob aplicação de *L. plantarum* + *S. cerevisiae* e o *Trichoderma* sp., que exibiram valores de 5,48 e 4,71 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-2</sup>, respectivamente.

Embora as plantas-controle tenham exibido valores reduzidos de trocas gasosas, este efeito não pode ser atribuído somente à infecção por *Pythium aphanidermatum*, considerando que, para plantas da variedade Verdão, a aplicação de *T. harzianum* e *B. subtilis* resultaram em regulação positiva das trocas gasosas, mesmo não tendo sido efetivos no controle do patógeno. E, para a variedade Americano Gigante, apesar da aplicação de extrato de *M. alternifolia* ter sido eficiente no controle do patógeno, a taxa fotossintética foi similar à das plantas controle.

Para a variedade Verdão, a regulação positiva das trocas gasosas, sob aplicação de *B. subtilis* e extrato de *M. alternifolia*, possivelmente, deve-se ao fato desses tratamentos terem potencializado o crescimento das raízes e da parte aérea, possibilitando maior absorção de água e captação de luz pelas plantas. Resultados similares foram verificados por Johnstone *et al.* (2005), em estudo conduzido com plantas de pimenta, os quais verificaram que a redução da taxa fotossintética das plantas infectadas por *P. aphanidermatum* estava relacionada à redução da área foliar.

Plantas da variedade Verdão exibiram menor relação Ci/Ca sobre aplicação de fosfito de potássio e valores intermediários sob aplicação de *B. subtilis*, *T. harzianum* e extrato de *M. alternifolia* (Figura 13D). Os resultados intermediários obtidos nesses tratamentos evidenciam um equilíbrio entre a absorção e assimilação de CO<sub>2</sub> nessas plantas. Para a variedade Americano Gigante, as variações na relação Ci/Ca foram menores sob aplicação de *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae* e fosfito de potássio, quando comparadas aos demais tratamentos. Sob aplicação de fosfito de potássio, a relação Ci/Ca foi reduzida em função do seu impacto da  $g_s$  dessas plantas, que limitou o influxo de CO<sub>2</sub>, resultando em redução na sua concentração do interior das células.

## 5 CONCLUSÕES

Este é o primeiro relato de *Pythium aphanidermatum* causando *damping-off* em plântulas de coentro no mundo.

O *Trichoderma* sp. exibiu maior inibição do crescimento micelial de *P. aphanidermatum*.

*Bacillus subtilis* e fosetil-Al mostraram maior percentual de inibição do crescimento micelial.

Os menores percentuais de tombamento de pós-emergência foram nos tratamentos com fosetil-Al, *Lactobacillus plantarum* + *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma* sp. e extrato de *Memaleuca altenifolia*.

A variedade Verdão exibiu melhores resultados para a emergência e características relacionadas ao crescimento, massa fresca de parte aérea e raiz, comprimento de raiz e altura de plantas.

Sob aplicação de *Bacillus subtilis* e extrato de *M. altenifolia*, a variedade Verdão exibiu melhor desempenho em termos de crescimento de parte aérea e raiz.

A aplicação do extrato de *M. altenifolia* e *B. subtilis*, na variedade Verdão, regulou positivamente as trocas gasosas.

A variedade Americano Gigante apresentou maiores teores de pigmentos fotossintéticos.

Para a variedade Americano Gigante, a taxa fotossintética e a condutância estomática foram maiores sob aplicação de *Trichoderma* sp.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCSEM. Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudanças. **Pesquisa de mercado de sementes de hortaliças**. 2009. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/dados-do-seto>>. Acesso em: 03 jul. 2021.

Abreu, D. G.; Martins, W. S.; Miranda, F. F. R. Indução de resistência ao crestamento gomoso do caule em melancia com uso de fosfito. **Revista Sítio Novo**, v. 5 n. 1, p. 118-127, 2021. <http://doi.org/10.47236/2594-7036.2021.v5.i1.118-127p>

Achary, V. M. M.; Ram, B.; Manna, M.; Datta, D.; Bhatt, A.; Reddy, M. K.; Agrawal, P. K. Phosphite: a novel P fertilizer for weed management and pathogen control. **Plant Biotechnology Journal**, v.15, p.1493-1508, 2017. <https://doi.org/10.1111/pbi.12803>

AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 05 ago. 2021.

Aguiar, C. Botânica para Ciências Agrárias e do Ambiente. **Sistemática**. Instituto Politécnico de Bragança, v. 3, 2012. 87-88 p.

Al-Hinai, A. H.; Al-Sadi, A. M.; Al-Bahry, S. N. ; Mothershaw, A. S.; Al-Said, F. A.; Al-Harhi, S. A.; Deadman, M. L. Isolation and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* with antagonistic activity against *Pythium aphanidermatum*. **Journal of Plant Pathology**, v. 92, n. 3, p. 653-660, 2010.

Altschul, S. F. 1990. BLAST algorithm. In: eLS.

Ambrósio, M. M. Q.; Bueno, C. J.; Padovani, C. R.; Souza, N. L. Control of soil-borne phytopathogenic fungi by the association between materials vegetable materials and solarization. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 354-358, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052008000400010>

Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. **Manual de Fitopatologia-Princípios e Conceitos**. 5. ed. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 2018.

Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. São Paulo-SP, v.1, 2011.

Arroyo, J. C.; Henríquez, J. L. Evaluation of the efficacy of the bio-fungicide Timorex Gold® in the control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in 'Hass' avocados, Cabildo, Valparaiso region, Chile. **International Society for Horticultural Science**, 2015. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1323.27>

Ashwathi, S.; Ushamalini, C.; Parthasarathy, S.; Nakkeeran, S. Morphological, pathogenic and molecular characterisation of *Pythium aphanidermatum*: A causal pathogen of coriander damping-off in India. **The Pharma Innovation Journal**, v. 6, n. 11, p. 44-48, 2017.

Bala, K.; Robideau, G. P.; Levésque, C. A.; De Cook, A. W. A. M.; Abad, Z. G. *Phytophythium* Abad, de Cock, Bala, Robideau, Lodhiand, Lévesque, gen. nov. and

*Phytophthora sindhum* Lodhi, Shahzad and Lévesque, sp. nov. **Persoonia**, v. 24, p. 136-137, 2010. [https://doi.org/10.3767 / 003158510X512748](https://doi.org/10.3767/003158510X512748)

Baptista, F. R.; Pires-Zottarelli, C. L. A.; Teixeira, L. D.; Santos Júnior, N. A. *In vitro* pathogenic evaluation of *Pythium middletonii* Sparrow and *Pythium dissotocum* Drechsler in lettuce. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.1, p.52-58, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052011000100008>

Baptista, M. J.; Reis Junior, F. B.; Xavier, G. R.; Alcântara, C.; Oliveira, A. R.; Souza, R. B.; Lopes, C. A. Eficiência da solarização e biofumigação do solo no controle da murcha-bacteriana do tomateiro no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.933-938, 2007.

Beakes, G. W.; Honda, D.; Thines, M. Systematics of the Labyrinthulomycota, Hyphochytriomycota and Oomycota. In: McLaughlin, D.J.E.; Spatafora, J.W. **The Mycota**. Springer, v.7, p. 39-97, 2014.

Bedendo, I. P. Damping-off. In: Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v.1, p. 435-440, 2011.

Bedendo, I. P.; Massola Júnior, N. S.; Amorim, L. Controles cultural, físico e biológico de doenças de plantas. In: Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2011. cap. 17, p. 367-388.

Bertini, C.H.D. M.; Pinheiro, E.A.R.; Nóbrega, G.N.; Duarte, J.M.D.L. Desempenho agrônomico e divergência genética de genótipos de coentro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 409-416, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902010000300013>

Bettiol, W.; Ghini, R.; Galvão, J. A. H.; Zocchi, S.S. Solarização do solo para o controle de *Pythium* e plantas daninhas em cultura de crisântemo. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 3, 1994. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161994000300013>

Bhaliya, C. M.; Jadeja, K. B. Efficacy of different fungicides against *Fusarium solani* causing coriander root rot. **The Bioscan**, v. 9, n. 3, p. 1225-1227, 2014.

Boat, M. A. B.; Sameza, M. L.; Iacomini, B.; Tchameni, S. N.; Boyom, F. F. Screening, identification and evaluation of *Trichoderma* spp. for biocontrol potential of common bean damping-off pathogens. **Biocontrol Science and Technology**, v.30, n.3, p. 228-242, 2019. <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1700909>

Bojórquez-Quintal, E.; Escalante-Magaña, C.; Echevarría-Machado, I.; e Martínez-Estévez, M. Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1767, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01767>

Cabi Biosciences. **Index Fungorum**. 2004. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org>. Acesso em: 11 jul. 2021.

Caixeta, M. P.; Carvalho Nunes, W. M.; Santos, A. F.; Tessmann, D. J.; Vida, J. B. Espécies de *Phytophthora* associadas à gomose em pomares de citros no Estado do

Paraná, Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 39, p. 242-247, 2013.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-54052013000400002>

Cardoso, M. O. **Hortaliças não-convencionais da Amazônia**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, p. 150, 1997.

Carson, C. F.; Hammer, K. A.; Riley, T. V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, p. 50-62, 2006. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>

Cavalcanti, M. A. Q. *Corniculariella brasiliensis*, a new species of coelomycetes in the rhizosphere of *Caesalpinia echinata* (Fabaceae, Caesalpinioideae) in Brazil. **Phytotaxa**, v.178, n.3, p. 197–204, 2014. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.178.3.5>

Charles, D. J. Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. **Springer**, p.588, 2013.

CNA. Mapeamento e quantificação da cadeia produtiva das hortaliças. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/cartilhas/mapeamento-e-quantifica%C3%A7%C3%A3o-da-cadeia-produtiva-das-hortali%C3%A7as>. Acesso em: 01 ago. 2021.

Cook, R. J.; Zhang, B. X. Degrees of sensitivity to metalaxyl within the *Pythium* spp. pathogenic to wheat in the Pacific Northwest. **Plant Disease**, v. 69, p. 686-688, 1985.

Compant, S.; Duffy, B.; Nowak, J.; Clement, C.; Barka, E. A. Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. **Applied Environmental Microbiology**, 2005, v. 71, n. 9, p. 4951–4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>

Cook, R. J.; Baker, K. F. Nature and practice of biological control of plant pathogens. **Plant Disease**, 1983.

Corrêa, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v. 2, 1984. 335-336 p.

Cox, S. D.; Mann, C. M.; Markham, J. L.; Campainha, H.C.; Gustavo, J. E.; Warmington, J. R.; Wyllie, S. G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 1, p. 170–175, 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x>

Damascêno, D. M. **Estudo da disponibilização de nitrato em águas e hortaliças produzidas na região de Lagoa das Flores Em Vitória Da Conquista – BA**. 2012. 63p. Dissertação (Mestrado em Genética, Biodiversidade e Conservação). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, BA.

Davidse, L. C.; Hofman, A. E.; Velthuis, G. C. M. Interferência específica de metalaxil com atividade endógena de RNA polimerase em núcleos isolados de *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*. **Experimental Mycology**, v. 7, p. 344-361, 1983.

De Cock, A.W.; Lodhi, A. M.; Rintoul, T. L.; Bala, K.; Robideau, G. P.; Abad, Z. G.; Coffey, M. D.; Shahzad, S.; Lévesque, C.A. *Phytophthora*: molecular phylogeny and

systematics. **Persoonia**, v. 34, p. 25–39, 2015.  
<https://doi.org/10.3767/003158515X685382>

Deliopoulos, T.; Kettlewell, P. S.; Hare, M. C. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. **Crop Protection**, v.29, n.10, p.1059-1075, 2010.  
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>

Dias, F. H. C.; Venda, L. A.; Jovino, R. S.; Dias, F. M. C.; Reis, A. S.; Silva, E. G. F.; Lima, A. T.; Podestá, G. S. Phytonematodes associated with coriander culture. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 83553-83563, 2020.  
<https://doi.org/10.34117/bjdv6n10-697>

Diederichsen, A. **Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 3.** Rome, International Plant Genetic Resources Institute, 1996.

Elshahawy, I. E., El-Mohamedy, R. S. Biological control of *Pythium* damping-off and root-rot diseases of tomato using *Trichoderma* isolates employed alone or in combination. **Journal Plant Pathology**, v.101, p.597–608, 2019.  
<https://doi.org/10.1007/s42161-019-00248-z>

Endo, R.; Colt, W. Anatomy, cytology and physiology of infection by *Pythium*. **Proceedings of the American Phytopathological Society**, v. 1, p. 215-223, 1974.

Eshraghi, L.; Anderson, J.; Aryamanesh, N.; Shearer, B.; McComb, J.; Hardy, G. E.; O'Brien, P. A. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v.60, n.6, p.1086-1095, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02471.x>

Ferraz, S.; Freitas, L. G.; Lopes, E. A.; Dias-Arieira, C.R. **Manejo Sustentável de Fitonematoides.** Viçosa, UFV, 2010. 304p.

Ferreira, A. P.; Everaldo F. S.; Lopes A.; Freitas G. F. Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, n. 3, p. 15, 2008.

Ferreira, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

Ferreira, M. D. F. **Epidemiologia de doenças radiculares na cultura do coentro no município de Arapiraca-AL.** 2013. 35p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL.

Filgueira, F. A. R. **Manual de olericultura: cultura e comercialização de hortaliças.** São Paulo, v.2, p.357, 1982.

Filgueira, F. A. R. **Novo manual de olericultura.** 3. ed. Viçosa: UFV, p.402-421, 2008

Filgueira, F. A. R. **Novo manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

Fleischmann, F.; Koehl, J.; Portz, R.; Beltrame, A. B.; Oßwald, W. Physiological changes of *Fagus sylvatica* seedlings infected with *Phytophthora citricola* and the contribution of its elicitor “citricolin” to pathogenesis. **Plant Biology**, v. 7, n. 6, p.650-658, 2005.

FRAC INTERNACIONAL. FRAC CodeList ©2019: Fungal control agentes sorted by cross resistance pattern and mode of action. Disponível em: <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2019.pdf>. Acesso em: 01 ago. 2021.

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. <https://doi.org/10.1094 / PDIS-94-9-1167B>

Ghini, R.; Bettiol, W; Caldari Júnior, P. Solarização do solo para o controle de *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 23, n. 2, 1997.

Grijalba, P.E.; Ridao, A.D.C. Controle químico de *Pythium* spp. em plântulas de soja. **Revista de Investigaciones Agropecuárias**, v. 43, p. 67-71, 2017.

Guindon, S.; Gascuel, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, v. 52, n.5, p. 696–704, 2003. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>

Guzmán-Guzmán, P.; Porrás-Troncoso, M. D.; Olmedo-Monfil, V.; Herrera-Estrella, A. *Trichoderma* Species: Versatile Plant Symbionts. **Plant Disease**, v. 109, n. 1, 2018. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>

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 plant pathogens. Annual review of **Phytopathology**, v. 11, p. 77-98, 1973.

Hermann, D.; Gisi, U. Fungicide resistance in oomycetes with special reference to *Phytophthora infestans* and phenylamides. In: Thind, T.S. Fungicide resistance in crop protection: risk and management. **CABO**, p. 133-140, 2012.

Hiscox, J. D.; Israelstam, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979. <https://doi.org/10.1139/b79-163>

Hudspeth, D. S.; Nadler, S. A.; Hudspeth, M.E. A COX2 molecular phylogeny of the Peronosporomycetes. **Mycologia**, v. 92, 674-684, 2000. <https://doi.org/10.1080/00275514.2000.12061208>

IBGE. **CENSO AGROPECUÁRIO**, 2017.

Infante, N. B.; Feijo, F. M; Mendes, A. L. S. F; Ramos-Sobrinho, R; Reis, L. S; Assunção, I. P; Lima, G. S. A. First report of coriander (*Coriandrum sativum*) seedling damping-off caused by *Pythium irregulare* in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 2, p. 456, 2018. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-17-0835-PDN>

- Javaid, A.; Afzal, L.; Shoaib, A. Biological control of charcoal rot of mungbean by *Trichoderma harzianum* and shoot dry biomass of *Sisymbrium irio*. **Planta daninha**, v.35, 2017. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582017350100075>
- Jesen, C. E. D.; 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. 58, n. 4, p. 801-801, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02073.x>
- Jesus, A. L. De; Gonçalves, D. R.; Rocha, S. C. O.; Marano, A. V.; Jerônimo, G. H.; Souza, J. I. D.; Castilho Boro, M.; Pires-Zottarelli, C. L. A. Morphological and Phylogenetic Analyses of Three *Phytophthium* Species (Peronosporales, Oomycota) from Brazil. **Cryptogamie Mycologie**, v. 37, p. 117–128, 2016. <https://doi.org/10.7872/crym/v37.iss1.2016.117>
- Johnstone, M.; Grodzinski, B.; Yu, H.; Sutton, J. Progress Can Be Monitored by CO<sub>2</sub> Gas Exchange of the Plant Canopy. **Plant Disease**, 1999. <https://doi.org/10.4271/1999-01-2023>
- Johnstone, M.; Chatterton, S.; Sutton, J.C.; Grodzinski, B. Net carbon gain and growth of bell peppers, *Capsicum annuum* “Cubico”, following root infection by *Pythium aphanidermatum*. **Phytopathology**, v. 95, n. 4, p. 354-361, 2005. <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-95-0354>
- King, M.; Reeve, W.; Van Der Hoek, M. B.; Williams, N.; McComb, J.; O’Brien, P. A.; Hardy, G. E. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. **Mol Genet Genomics**, v.284, n.6, p.425-435, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00438-010-0579-7>
- Kipngeno, P.; Losenge, T.; Maina, N.; Kahangi, E.; Juma, P. Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum* against *Pythium aphanidermatum* in tomatoes. **Biological Control**, v.90, p.92-95, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.05.017>
- 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. <https://doi.org/10.1094/PD-89-1130A>
- Kramer, P. J.; Boyer, J. S. Water relations of plants and soils. **Academic Press**, 1995.
- Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870-1874, 2016. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Lara-Capistran, L.; Zulueta-Rodriguez, R.; Castellanos-Cervantes, T.; Reyes-Perez, J. J.; Preciado-Rangel, P.; Hernandez-Montiel, L.G. Efficiency of marine bacteria and yeasts on the biocontrol activity of *Pythium ultimum* in ancho-type pepper seedlings. **Agronomy**, v. 10, n.3, p.408, 2020. <https://doi.org/10.3390/agronomy10030408>
- Ledo, F. J. S.; Souza, J. A. Coentro (*Coriandrum sativum* L.). In: Cardoso, M. O. (coord.). **Hortaliças não-convencionais da Amazônia**. Brasília: EMBRAPA, p. 127, 1997.

- Lee, D.W.; Brammeier, S.; Smith, A. P. The selective advantages of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. **Biotropica**, v. 19, n. 1, p. 40-49, 1987. <https://doi.org/10.2307/2388458>
- Lévesque, C. A.; De Cock A.W. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. **Mycological Research**, v.108, p.1363-1383, 2004. <https://doi.org/10.1017/S0953756204001431>
- Li, B.; Ravnskov, S.; Xie, G.; Larsen, J. Biocontrol of *Pythium* damping-off in cucumber by arbuscular mycorrhiza-associated bacteria from the genus *Paenibacillus*. **BioControl**, v. 52, p. 863-875, 2007. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9076-2>
- Lima, J. S. S.; Bezerra Neto, F.; Negreiros, M. Z.; Freitas, K. K. C.; Barros Junior, A. P. Desempenho agroecônômico de coentro em função de espaçamentos e em dois cultivos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 38, n. 4, p. 407-413, 2007.
- Lima, M. F.; Avila, A. C.; Wanderley Junior, J. L.; Wanderley, J. L. G. Coriander: a new host of Tosspovirus in the Submedío of San Francisco Valley. *In*: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 22, 1999, Jaboticabal, SP. **Programa e resumos**. Jaboticabal: UNESP, 1999. p. 105-106.
- Lobato, M. C.; Olivieri, F. P.; Daleo, G. R.; Andreu, A. B. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.117, n.3, p.102-109, 2010. <https://doi.org/10.1007/BF03356343>
- Lookabaugh, E.C.; Kerns, J.P.; Shew, B.B. evaluating fungicide selections to manage pythium root rot on poinsettia cultivars with varying levels of partial resistance. **Plant disease**, v.105, n.6, 2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-20-0807-RE>
- Lu, Y.; Yao, J. Chloroplasts at the crossroad of photosynthesis, pathogen infection and plant defense. **International Journal of Molecular Sciences**, v.19, n.12, p.3900, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19123900>
- Machinandiarena, M. F.; Lobato, M. C.; Feldman, M. L.; Daleo, G. R.; Andreu, A. B. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. **Journal of Plant Physiology**, v.169, n.14, p.1417-1424, 2012.
- Mahuku, G. S. A simple extraction method suitable for PCR-based analysis of plant, fungal, and bacterial DNA. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 22, p. 71-81, 2004.
- Mandal, S.; Mandal, M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 6, p. 421-428, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.001>
- Martins-Corder, M. P.; Melo, I. S. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* Kleb. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, n.1, p.1-7, 1998. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161998000100002>
- Massola JR, N. S. M.; Krugner, T. L. Fungos fitopatogênicos. *In*: Amorim, L., **Mycology**, n.21, 1981. Disponível em: [http://www.cbs.knaw.nl/simonline/sim\\_021/sim21.htm](http://www.cbs.knaw.nl/simonline/sim_021/sim21.htm). Acesso em: 11 jul. 2021.

- Matheron, M. E.; Porchas, M. Impact of azoxystrobin, dimethomorph, fluazinam, fosetyl-Al, and metalaxyl on growth, sporulation, and zoospore cyst germination of three *Phytophthora* spp. **Plant Disease**, v. 84, p.454-458, 2000. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.454>
- Matsuda, R.; Ohashi-Kaneko, K.; Fujiwara, K.; Goto, E.; Kurata, K. Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light. **Plant and Cell Physiology**, v.45, p.1870-1874, 2004.
- Mehetre, S.T.; Kale, S. P. Comparative efficacy of thermophilic bacterium, *Bacillus licheniformis* (NR1005) and antagonistic fungi, *Trichoderma harzianum* to control *Pythium aphanidermatum* -induced damping off in chilli (*Capsicum annuum* L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, p.1068–1074, 2011. <https://doi.org/10.1080/03235401003755262>
- Michereff, S. J.; Andrade, D. E. G. T.; Menezes, M. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005. 398 p.
- Mihajlović, M.; Rekanović, E.; Hrustić, J.; Tanović, B.; Potočnik, I.; Stepanović, M.; Milijašević-Marčić, Svetlana. **Pesticides and Phytomedicine**, v. 28, n. 2, 2013. <https://doi.org/10.2298/PIF1302117M>
- Milne, I.; Wright, F.; Rowe, G.; Marshall, D. F.; Husmeier, D.; McGuire, G. TOPALi: Software for Automatic Identification of Recombinant Sequences within DNA Multiple Alignments. **Bioinformatics**, v. 20, n. 11, p. 1806-1807, 2004. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth155>
- Mofidnakhaei, Ma.; Abdossi, V.; Dehestani, A.; Pirdashti, H.; Babaeizad, V. Potassium phosphite affects growth, antioxidant enzymes activity and alleviates disease damage in cucumber plants inoculated with *Pythium ultimum*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 49, p. 207-221, 2016. <https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1180924>
- Moorman, G.W.; Kim, S. H. Species of *Pythium* from Greenhouses in Pennsylvania Exhibit Resistance to Propamocarb and Mefenoxam. **Plant Disease**, v. 88, p. 630-632, 2004. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.6.630>
- Msimbira, L.A.; Smith, D. L. The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, 2020. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00106>
- Muthukumar, A.; Eswaran, A.; Sangeetha, G. Occurrence, virulence and pathogenicity of species of *Pythium* inciting damping-off disease in chilli. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v.40, n.1, p.67-71, 2010.
- Nadeem, M.; Muhammad Anjum, F.; Issa Khan, M.; Tehseen, S.; El-Ghorab, A.; Iqbal Sultan, J. Nutritional and medicinal aspects of coriander (*Coriandrum sativum* L.): A review. **British Food Journal**, v. 115, n. 5, p. 743-755, 2013. <https://doi.org/10.1108/00070701311331526>
- Nascimento, W. M.; Pereira, R. S. Coentro: a hortaliça de mil e uma utilidades. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, 2005.

- Nojosa, G. B. A.; Resende, M. L. V.; Resende, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. *In: Cavalcanti, L. S.; Di Piero, R. M.; Cia, P.; Pascholati, S. F.; Resende, M. L. V.; Romeiro, R. S. (eds.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba: FEALQ, 2005. cap.6, p.139-153.
- Novaes, M. I. C.; Debona, D.; Fagundes-Nacarath, I. R. F.; Brás, V. V.; Rodrigues, F. A. Physiological and biochemical responses of soybean to white mold affected by manganese phosphite and fluazinam. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.41, n.186, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2976-9>
- Nzungize, J. R.; Lyumugabe, F.; Busogoro, J. P. & Baudoin, J.P. *Pythium* root rot of common bean: biology and control methods. A review. *Biotechnol, Agronomy, Society and Environment*, v. 16, p. 405-413, 2012.
- Oliveira, R. J. V.; Bezerra, J. L.; Lima, T. E. F.; Silva, G. A.; Cavalcanti, M. A. Q. *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. *Nova Hedwigia*, v. 103, n. 1, p. 185-192, 2016. [https://doi.org/10.1127/nova\\_hedwigia/2016/0343](https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2016/0343)
- Omoboye, O. O.; Geudens, N.; Duban, M.; Chevalier, M.; Flahaut, C.; Martins, J. C.; Leclère, V.; Oni, F. E.; Höfte, M. *Pseudomonas* sp. COW3 Produces New Bananamide-Type Cyclic Lipopeptides with Antimicrobial Activity against *Pythium myriotylum* and *Pyricularia oryzae*. *Molecules*, v. 24, p. 4170, 2019.
- Pahalvi, H. N.; Rafiyya, L.; Rashid, S.; Nisar, B.; Kamili, A. N. Chemical Fertilizers and their Impact on Soil Health. *In: Dar, G.H.; Bhat, R.A.; Mehmood, M.A.; Hakeem, K.R. (eds.). Microbiota and Biofertilizers*. Springer, 2021, v.2, p.1-20. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-61010-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-61010-4_1)
- Pandey, K. K.; Pandey, P. K. Differential response of biocontrol agents against soil pathogens on tomato, chilli and brinjal. *Indian Phytopathol*, v.58, p.329-331, 2005.
- Panova, G. G.; Heißner, A.; Grosch, R.; Kläring, H.-P. *Pythium aphanidermatum* May Reduce Cucumber Growth without Affecting Leaf Photosynthesis. *Journal of Phytopathology*, v.160, p.37-40, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01849.x>
- Pereira, R. S.; Muniz, M. F. B.; Nascimento, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. *Horticultura Brasileira*, v. 23, n. 3, 2005.
- Pimentel, A. A. M. P. *Olericultura no trópico úmido: hortaliças na Amazônica*. 1º ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 46-60 p.
- Pinheiro, J. C.; Pinto, L. A.; Pinheiro, C. C.; Silva, F. E.; Camara, F. T. Desempenho agrônômico do coentro em função da densidade de semeadura e direcionamento das linhas de plantio no canteiro. *Agrarian Academy*, v.6, n.11; p. 363, 2019.
- Plaats-Niterink, A. J. Van der. Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology*, n.21, p. 242, 1981.

Ploetz, R. C.; Schaffer, B. Effects of flooding and *Phytophthora* root rot on photosynthetic characteristics of avocado. **Proceedings of Florida State Horticulture Society**, v. 100, p. 290–294, 1987.

Postma, J.; Nijhuis, E. H. *Pseudomonas chlororaphis* e alterações orgânicas controlando *Pythium* infecção em tomate. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, p. 91-107. 2019.

Reis, A.; Lopes C. A. **Doenças do Coentro no Brasil**. Embrapa, Brasília, 2016.

Reuveni, M. Post-infection applications of K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>, phosphorous Acid and Dimethomorph inhibit development of Downy mildew caused by *Plasmopora viticola* on grapes. **Journal of Small Fruit e Viticulture**, v. 5. n. 22, p.27-38, 1997.  
[https://doi.org/10.1300/J065v05n02\\_03](https://doi.org/10.1300/J065v05n02_03)

Reuveni, M.; Sanches, E.; Barbier, M. Curative and suppressive activities of essential tea tree oil against fungal plant pathogens. **Agronomy**, v.10, n.4, p.609, 2020.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy10040609>

Roberts, D. P.; Lohrke, S. M.; McKenna, L.; Lakshman, D. K.; Kong H.; Lydon J. Mutation of a degS homologue in *Enterobacter cloacae* decreases colonization and biological control of damping-off on cucumber. **Phytopathology**, v. 101, n. 2, p. 271-80, 2011.

Robideau, G. P., de Cock, A. W. A. M., Coffey, M. D., Voglmayr, H., Brouwer, H., Bala, K., Chitty, D. W., Désaulniers, N., Eggertson, Q. A., Gachon, C. M. M., Hu, C. H., Küpper, F. C., Rintoul, T. L., Sarhan, E., Verstappen, E. C. P., Zhang, Y., Bonants, P. J. M., Ristaino, J. B. & Lévesque, A. C. DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and internal transcribed spacer. **Molecular and Ecological Resources**, v. 11, p. 1002-1011, 2011.

Rocha, A. O. **Manejo da podridão de raiz e colo em coentro (*Coriandrum sativum* L.)**. 2017. 14 p. Dissertação (Mestrado em Proteção de plantas). Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, 2017.

Romero, G.; Jensen, C. E. De; Palmateer, A. J. First report of *Pythium dissotocum* affecting cilantro in hydroponic systems in Puerto Rico. **Plant Health Progress**, v. 13, n. 1, p. 32, 2012. <https://doi.org/10.1094/PHP-2012-1214-01-BR>

Salem, A. A.; Abdelrahman, H. M. Cellulolytic activity of *Trichoderma reesei* and *Bacillus subtilis* against the plant pathogen *Pythium debaryanum*. **Environment, Biodiversity and Soil Security**, v.5, p.105-119, 2021.  
<https://doi.org/10.21608/jenvbs.2021.71242.1132>

Sánchez-Montesinos, B.; Diánez, F.; Moreno-Gavira, A.; Gea, F. J.; Santos, M. Plant growth promotion and biocontrol of *Pythium ultimum* by saline tolerant *Trichoderma* isolates under salinity stress. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 11, p. 2053, 2019.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph16112053>

Santos, E. J. Desenvolvimento sustentável e agricultura familiar: uma análise do povoado de Lagoa das Flores em Vitória da Conquista-BA. *In*: JORNADA

INTERNACIONAL POLÍTICAS PÚBLICAS, 7, 2015, Maranhão. **Anais [...]**, JOINPP, Maranhão, 2015.

Santos, J. H. R.; Alves, J. M. A. Biofenologia do coentro. **Acta Botanica Brasilica**, v.6, n.1, p. 75, 1992.

Santos, S. L.; Campos, T.; Dallacosta, N. L.; Mazaro, S. M. Potencial de produtos à base de fosfitos no controle de *Pythium* sp. em condições in vitro. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v.11, n.1, p.105-110, 2018. <https://doi.org/10.5935/PAeT.V11.N1.13>

Shao, X.; Cheng, S.; Wang, H.; Yu, D.; Mungai, C. The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 6, p. 1642-1649, 2013. <https://doi.org/10.1111/jam.12193>

Siddiqui, Z.S.; Habib, A.; Umar, M.; Shams, Z.I. Effect of *Pythium aphanidermatum* (root rot pathogen) on the physiology of *Luffa cylindrica* (Sponge gourd) and its management by microbial antagonists. **South African Journal of Botany**, v.146, p.614-623, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.11.038>

Silva, A.C.; Silva, F.M.O.; Milagre, J.C.; Omena-Garcia, R.P.; Abreu, M.C.; Mafia, R. G.; Nunes-Nesi, A.; Alfenas, A.C. Eucalypt plants are physiologically and metabolically affected by infection with *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.123, p.170-179, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.002>

Silveira, A. L.; Soares, M. G. O.; Guimarães, S. S. C., Pereira, F. D.; Pozzebon, B. C.; Alves, E. Avaliação da sensibilidade in vitro de isolados de *Colletotrichum* spp. à fungicidas. **Nativa**, v.8, n.1, p.1-7, 2020. <http://dx.doi.org/10.31413/nativa.v8i1.7443>

Souza, S. T.; Santos, J. R D.; Rocha, F. C. B.; Leal, V. A. S. A relação campo-cidade na produção do espaço urbano industrial: o bairro Lagoa das Flores em Vitória da Conquista/Ba. In: SIMPÓSIO CIDADES MÉDIAS E PEQUENAS DA BAHIA, 5, 2016, Ilhéus. **Anais [...]**. Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, 2016.

Sriti, J.; Wannes, W. A.; Talou, T.; Mhamdi, B.; Hamdaoui, G.; Marzouk, B. Lipid, fatty acid and tocol distribution of coriander fruit's diferente parts. **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 294-300, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.006>

Stanghellini, M. E.; Rasmussen, S. L. Hidroponics: A solution for zoosporic pathogens. **Plant Disease**, v. 78, n. 12, p. 1129-1138, 1994.

Stephan, D.; Schmitt, A.; Martins Carvalho, S.; Seddon, B.; Koch, E. Evaluation of biocontrol preparations and plant extracts for the control of *Phytophthora infestans* on potato leaves. **European Journal of Plant Pathology**, v.112, p. 235-246, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-2083-1>

Sutton, J. C.; Sopher, C. R.; Owen-Going, T. N.; Liu, W.; Grodzinski, B.; Hall, J. C.; Benchimol, R. L. Etiology and epidemiology of *Pythium* root rot in hydroponic crops: Current knowledge and perspectives. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 4, p. 307-321, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052006000400001>

Sukarno, N.; Smith, S. E.; Scott, E. S. The effect of fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis: I. The effects on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth. **New Phytology**, v.25, p.139– 147, 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03872.x>

Tchameni, S. N.; Cotârleț, M.; Ghinea, I. O.; Bedine, M. A. B.; Sameza, M. L.; Borda, D.; Bahrim, G.; Dinică, R. M. Involvement of lytic enzymes and secondary metabolites produced by *Trichoderma* spp. in the biological control of *Pythium myriotylum*. **International Microbiology**, v. 23, p.179-188, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00089-x>

Utkhede, R. S.; Levesque, C. A.; Dinh. D. *Pythium aphanidermatum* root rot in hydroponically grown lettuce and the effect of chemical and biological agents on its control. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 22, p. 138-144, 2000. <https://doi.org/10.1080/07060660009500487>

Uzuhashi, S.; Tojo, M.; Kakishima, M. Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. **Mycoscience**, v. 51, n. 5, p. 337-365, 2010. <https://doi.org/10.1007/S10267-010-0046-7>

Verma, M.; Brar, S. K.; Tyagi, R. D.; Surampalli, R. Y.; Valero, J. R. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v.37, p.1 -20, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.05.012>

Vinayarani, G.; Prakash, H.S. Fungal endophytes of turmeric (*Curcuma longa* L.) and their biocontrol potential against pathogens *Pythium aphanidermatum* and *Rhizoctonia solani*. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v.34, n.49, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2431-x>

Wang, M.; Vleet, S. V.; McGee, R.; Paulitz, T.; Porter, L.; Schroeder, K.; Vandemark, G.; Chen, W. Chickpea seed rot and damping-off caused by metalaxyl-resistant *Pythium ultimum* and its management with ethaboxam. **Plant Disease**, 2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1659-RE>

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. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01353.x>

Warren, C. R.; Aranda, I.; Cano, F. J. Responses to water stress of gas exchange and metabolites in *Eucalyptus* and *Acacia* spp. **Plant, Cell and Environment**, v. 34, n. 10, p. 1609-1629, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02357.x>

Weatherley, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant: the field measurements of water deficits in leaves. **New Phytologist**, v. 49, p. 81-97, 1950. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1950.tb05146.x>

White, T. J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J. Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, Gelfand MA, Sninsky DH, White JJ, Eds TJ (eds) PCR protocols. A guide to methods and applications. **Academic Press**, p. 315–322, 1990.

Zalila-Kolsi, I.; Mahmoud, A. B.; Ali, H.; Sellami, S.; Nasfi, Z.; Tounsi, S.; Jamoussi, K. Antagonist effects of *Bacillus* spp. strains against *Fusarium graminearum* for protection of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). **Microbiological Research**, v. 192, p. 148–158, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.012>