



VICTOR BIAZZOTTO CORREIA PORTO

**QUANTIFICAÇÃO DE *FUSARIUM VERTICILLIOIDES* E
SUPRESSIVIDADE EM SISTEMAS DE ROTAÇÃO DE
CULTURAS MILHO/SOJA**

**LAVRAS – MG
2018**

VICTOR BIAZZOTTO CORREIA PORTO

**QUANTIFICAÇÃO DE *FUSARIUM VERTICILLIOIDES* E SUPRESSIVIDADE
EM SISTEMAS DE ROTAÇÃO DE CULTURAS MILHO/SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Orientador

**LAVRAS – MG
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo próprio autor.

Porto, Victor Biazzotto Correia.

Quantificação de *Fusarium verticillioides* e supressividade em
sistemas de rotação de culturas milho/soja - Victor Biazzotto
Correia Porto. - 2018.

53 p.

Orientador: Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Podridão de espiga. 2. Podridão de colmo. 3. Zea mays. I.
Medeiros, Flávio Henrique Vasconcelos de. II. Título.

VICTOR BIAZZOTTO CORREIA PORTO

**QUANTIFICAÇÃO DE *FUSARIUM VERTICILLIOIDES* E SUPRESSIVIDADE
EM SISTEMAS DE ROTAÇÃO DE CULTURAS MILHO/SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 08 de novembro de 2018.

Dr. José da Cruz Machado UFLA

Dr. Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto EPAGRI

Dra. Heloisa Oliveira dos Santos UFLA

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Orientador

**LAVRAS-MG
2018**

AGRADECIMENTOS

A Deus, que iluminou o meu caminho durante esta caminhada, por me ajudar a alcançar grandes desejos e superar desafios.

Aos meus pais, Fabiano (*in memoriam*) e Luciana, por todo amor incentivo e apoio incondicional durante esses anos. Por me ensinarem a sempre continuar e conseguir superar as dificuldades encontradas, com honestidade e sinceridade. A minha Irma, Heloisa, por todo carinho e apoio.

Ao meu orientador, professor Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros por ter aceitado me orientar e pela sua dedicação e orientação no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao programa de pós-graduação em Fitopatologia, pela oportunidade de realizar meu mestrado.

A CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À UFLA por disponibilizar todo o espaço físico e institucional que propiciou a realização do projeto.

Aos demais membros da banca, Dr. Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto, Professor Dr. José da Cruz Machado e Dra Heloisa Oliveira dos Santos pelo conhecimento, experiência e colaboração.

Aos meus amigos do Laboratório de Biocontrole por terem ajudado durante todo o trabalho, sem vocês eu não teria conseguido realizar este trabalho.

Aos amigos da República Arueira pela contribuição no meu crescimento pessoal e profissional. Por tornarem esse caminho mais fácil e os dias mais felizes.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da desta etapa, o meu muito obrigado.

RESUMO

A prática da rotação de culturas é amplamente conhecida por trazer vários benefícios químicos, físicos e biológicos para o solo, entretanto muitos produtores ainda fazem uso do sistema de monocultivo de milho. Esse sistema apresenta várias desvantagens, dentre elas a fitossanitária com patógenos sobreviventes de restos culturais. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sobrevivência de *Fusarium verticillioides* em restos culturais de milho e observar o efeito da rotação de culturas na quantidade de inoculo desse patógeno. Adicionalmente foi avaliado o efeito da rotação de cultura na supressividade específica do solo a esse patógeno. Para isso foi conduzido um experimento durante duas safras 2016/2017 e 2017/2018 onde foram utilizados diferentes manejos para as culturas do milho, soja e áreas mantidas em pousio. A quantificação de DNA foi realizada com a utilização da técnica de Pcr em tempo real a partir de amostras de restos culturais de milho mantidas no campo durante as duas safras. A supressividade do solo foi avaliada pela metodologia de iscas biológicas, onde se utiliza iscas para a recuperação dos patógenos do solo, nesse caso colmos de milho autoclavados. Foi observado nesse estudo que os manejos adotados foram eficientes na redução da quantidade de DNA de *F. verticillioides* em restos culturais de milho. A rotação com a cultura da soja promove um incremento da supressividade do solo contra *F. verticillioides*. Por fim este estudo reforça a importância da rotação de cultura no manejo fitossanitário de doenças.

Palavras-chave: Podridão de espiga. Podridão de colmo. *Zea mays*. *Glycine max* L.

ABSTRACT

Crop rotation is widely known for providing many chemical, physical, and biological benefits to the soil. However, many farmers still use the corn monoculture system. This system presents many disadvantages, among which is the survival of pathogens in crop remains. In this context, we aimed to evaluate the survival of *Fusarium verticillioides* in corn cultural remains and observe the effects of crop rotation on the amount of inoculum from this pathogen. Furthermore, we assessed the impact of crop rotation on the specific suppressiveness of the soil on this pathogen. To do this, we experimented with the 2016/2017 and 2017/2018 harvests using different management systems for corn, soybean, and reposing areas. We quantified the DNA using the real-time PCR technique on samples of corn cultural remains maintained in the field during both harvests. We evaluated the soil suppressiveness through the biological bait methodology where baits are used to recover soil pathogens, in this case, autoclaved corn stalks. We observed that the management systems adopted were efficient in reducing the amount of *F. verticillioides* DNA in corn cultural remains. The rotation with soybean cultivation promotes an increase in soil suppressivity against *F. verticillioides*. Finally, this study reinforces the importance of crop rotation for the phytosanitary management of diseases.

Keywords: Ear rot. Stalk rot. *Zea mays*. *Glycine max* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Precipitação acumulada durante o período da safra 2016/2017.	20
Figura 2 - Precipitação acumulada durante o período da safra 2017/2018.	21
Figura 3 - Produtividade média de milho em quilogramas por hectare nas safras de 2017 e 2018 em rotação com soja e áreas em pousio.	26
Figura 4 - Média de peso de mil grãos de milho em gramas para três sistemas de cultivo durante as safras 2016/2017 e 2017/2018.....	27
Figura 5 - Porcentagem de grãos ardidos em milho nas safras 2016/2017 e 2017/2018 no sistema de monocultivo de milho, rotação soja/milho e pousio/ milho.	28
Figura 6 - Incidência de <i>Fusarium verticillioides</i> em grãos de milho avaliados pelo método “Blotter test.”	29
Figura 7 - Eficiência das reações de PCR em tempo real.....	30
Figura 8 - Média da concentração de DNA de <i>Fusarium verticillioides</i> em relação ao tempo para cada tratamento.	31
Figura 9 - Média da concentração de DNA de <i>F. verticillioides</i> em amostras na primeira safra 2016/2017.....	32
Figura 10 - Comparação entre médias das amostras finais da safra 2016/2017 e iniciais da safra 2017/2018.	33
Figura 11 - Comparação entre amostra final e inicial da safra 2017/2018.....	34
Figura 12 - Média da quantidade de DNA entre tratamentos ao final da segunda safra.....	35
Figura 13 - Porcentagem de iscas colonizadas no teste de supressividade de solo nas safras 2017 e 2018.....	36
Figura 14 - Diferença na porcentagem de iscas colonizadas entre as safras 2017/2018 e 2016/2017.	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição das culturas nas safras 2016/2017 e 2017/2018 para cada tratamento.	22
Tabela 2 - Resumo da análise de variância dos dados de produtividade de milho.....	47
Tabela 3 - Resumo da análise de variância dos dados de peso de mil sementes de milho.....	48
Tabela 4 - Resumo da análise de variância dos dados de porcentagem de grãos ardidos de milho	49
Tabela 5 - Resumo da análise de variância da incidência de Fusarium verticillioides obtidos pelo método do papel filtro ``Blotter Test``.....	50
Tabela 6 - Resumo da análise de variância da concentração DNA inicial safra 2016/2017.....	51
Tabela 7 - Resumo da análise de variância da concentração de DNA final safra 2016/2017 e inicial safra 2017/2018.....	52
Tabela 8 - Resumo da análise de variância da concentração de DNA inicial e final da safra 2017/2018.....	53
Tabela 9 - Resumo da análise de variância da concentração DNA final safra 2017/2018.....	54
Tabela 10 - Resumo da análise de variância da supressividade do solo safra 2016/2017	55
Tabela 11 - Resumo da análise de variância da supressividade do solo safra 2017/2018	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Cultura do milho e soja	14
2.2 <i>Fusarium verticillioides</i>	15
2.3 Rotação de cultura e sua importância na sobrevivência de <i>Fusarium verticillioides</i>	16
2.4 Supressividade do solo	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Local de condução dos experimentos	20
3.2 Confirmação de <i>Fusarium verticillioides</i> na área experimental	21
3.3 Preparo da área, plantio e manejo	21
3.4 Delineamento Experimental	22
3.5 Coleta, distribuição e processamento de amostras	23
3.6 Extração de DNA e PCR em tempo real	23
3.7 Teste de supressividade do solo a <i>Fusarium verticillioides</i>	24
3.8 Produtividade e Peso de mil grãos (PMG)	24
3.9 Porcentagem de grãos ardidos e incidência de <i>Fusarium verticillioides</i>	25
3.10 Análises estatísticas	25
4 RESULTADOS	26
4.1 Produtividade de grãos de milho	26
4.2 Peso de mil grãos de milho	27
4.3 Porcentagem de grãos ardidos em milho	28
4.4 Incidência de <i>Fusarium verticillioides</i> em Grãos de milho “Blotter Test”	28
4.5 Quantificação de <i>Fusarium verticillioides</i> em restos culturais de milho	29
4.6 Teste de Supressividade para <i>Fusarium verticillioides</i>	35
5 DISCUSSÃO	39
CONCLUSÕES	41

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
APÊNDICE A - TABELA 2.....	47
APÊNDICE B - TABELA 3.....	48
APÊNDICE C- TABELA 4.....	49
APÊNDICE D - TABELA 5.....	50
APÊNDICE E - TABELA 6.....	51
APÊNDICE F- TABELA 7.....	52
APÊNDICE G - TABELA 8	53
APÊNDICE H - TABELA 9	54
APÊNDICE I - TABELA 10.....	55
APÊNDICE J - TABELA 11	56

1 INTRODUÇÃO

O milho é um dos cereais mais cultivados no mundo com alto potencial produtivo. É uma planta altamente sensível a fatores abióticos e bióticos, como fertilidade do solo, condições climáticas, práticas culturais, época de semeadura, população de plantas e ocorrência de pragas e doenças (SIQUEIRA, 2013).

Aliada ao milho está a soja, frequentemente utilizada no sistema de rotação de culturas, além de ter um papel importante na proteção do solo durante seu ciclo vegetativo a soja tem alta capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico, isso faz com que a necessidade de adubação nitrogenada seja diminuída após seu ciclo (REICHARDT, 1990).

Esse sistema de rotação tem ganho destaque por se tratar de duas culturas com grandes vantagens econômicas. É largamente utilizado nas principais regiões produtoras e apresenta muitos benefícios para ambas as culturas.

Os impactos das doenças na cultura do milho cresceram bastante em razão do incremento de áreas irrigadas, bem como pela utilização da sucessão de cultura com o plantio de milho de 2º safra e a utilização da monocultura (TOMAZELA, 2005).

Dentre essas doenças, as causadas por espécies do gênero *Fusarium* são frequentemente associadas a cultura do milho, sendo o *F.verticillioides* um dos principais responsáveis por danos em regiões tropicais, dentre esses danos estão a podridão rosada da espiga e de grãos, podridão do colmo, além da produção de micotoxinas (ELLER et al., 2010; STUMPF et al., 2013).

A sobrevivência desse fungo está ligada principalmente a restos de cultura e sementes infectadas e nesse contexto a rotação de culturas está relacionada com o manejo dos restos culturais e com o período necessário para sua mineralização. Isso por que os restos culturais fornecem abrigo e nutrição aos fitopatógenos durante a fase saprofítica. (REIS & CASA, 2004).

Além disso, a rotação de culturas favorece o crescimento da população de microrganismos antagônicos a esses patógenos que sobrevivem em restos de cultura e no solo. A utilização constante desse tipo de manejo pode levar o solo a adquirir um caráter supressivo, que é a capacidade do solo, contendo uma população de determinado patógeno manter o nível da doença baixa, mesmo que em condições ambientais favoráveis e na presença de plantas susceptíveis (BAKER & COOK, 1974).

A técnica molecular de PCR em tempo real permite a quantificação de ácidos nucléicos de maneira precisa e com grande reprodutibilidade. Essa técnica vem ganhando destaque para detecção e quantificação de patógenos e é uma importante ferramenta em trabalhos científicos.

Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi quantificar o DNA do fungo *Fusarium verticillioides* presente em restos culturais de milho em rotação de cultura com soja e áreas de pousio, para se estimar o potencial de inóculo, além de avaliar o efeito da rotação de culturas na supressividade específica do solo contra esse patógeno.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do milho e soja

O milho é uma monocotiledônea de distribuição mundial pertencente à família das gramíneas (Poaceae), tribo Maydeae, gênero *Zea*, cientificamente denominado de *Zea mays* L. (FANCELLI, 1983). Está entre as culturas de maior importância no mundo, levando em consideração sua utilização e sua produção constitui a base da alimentação humana e animal. Seu cultivo é realizado em quase todos os continentes e sua importância está ligada a grande forma de utilização, que pode ser desde alimentação animal até a utilização em indústrias com grande tecnologia. A maior parte da produção mundial é destinada a alimentação animal seguida pela alimentação humana de forma direta ou indireta (PAES, 2006).

A expansão da cultura é devido à grande demanda por alimentos e sua utilização como fonte de energia renovável (SILVA, 2004). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando atrás somente os EUA e China. No Brasil o milho é a cultura com segunda maior produção, sendo ultrapassado somente pela soja, e tem-se caracterizado pela divisão da produção em duas épocas de plantio: plantio de verão, com início das chuvas e abrange de setembro a novembro dependendo da região e, plantio de inverno ou segunda safra, geralmente plantado em fevereiro ou março, após a soja. Na safra agrícola de 2017/2018, a área total cultivada com milho em solos brasileiros foi de 16.631,8 mil hectares, a produção total atingiu o valor de 80.786,0 mil toneladas e a produtividade média de 4,857 kg. ha⁻¹ (CONAB, 2018). A soja é uma planta herbácea de ciclo anual, pertencente à classe Dicotyledoneae, ordem Rosales, família Leguminosae, tribo Phaseoleae, gênero *Glycine* (Moench) (CASTRO, 2008). Ao que tudo indica, seu centro de origem é o continente asiático, região do Norte da China, no vale do Rio Amarelo (CHUNG & SINGH, 2008). É uma oleaginosa com grande importância na alimentação por apresentar um alto valor nutricional e um baixo custo. Seu maior interesse comercial é como fonte de óleo e proteína vegetal (FAO, 2013). Os principais produtores de soja são os Estados Unidos, o Brasil e a Argentina, que, juntos, são responsáveis por 82% da produção mundial. Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial, atrás somente dos EUA. Com uma área de 35.149,2 mil hectares mil de hectares cultivados, com uma produção de 119.281,7 mil toneladas (CONAB, 2018).

2.2 *Fusarium verticillioides*

Existem diversos patógenos associados a doenças causadoras de podridão de colmo e espigas do milho, dentro desse grupo existe um complexo com quatro espécies diferentes de *Fusarium* (*F. nygamai*, *F. thapsinum*, *F. andiyazi* e *F. verticillioides*), esse complexo de espécies é denominado *Fusarium fujikuroi*. Dentro desse grupo *F. verticillioides* é o principal causador de danos em regiões tropicais (LEYVA et al., 2015). *Fusarium verticillioides* Nirenberg (*F. moniliforme* Sheldon) é um fungo pertencente ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Hypocreales família Nectriaceae, gênero *Fusarium* e tem seu teleomorfo conhecido como *Gibberella fujikuroi*. (INDEX FUNGORUM, 2017). Em estágios iniciais de desenvolvimento apresenta micélio de cor branca, que se tornam violetas ou alaranjadas com o envelhecimento da colônia. Na maioria dos isolados os macroconídios são raros e os microconídios tem formato ovalado, não septados e de base achatada. (LESLIE & SUMMERELL, 2006). O *Fusarium verticillioides* possui uma ampla gama de hospedeiros principalmente dentro da família das Poaceae (LESLIE & SUMMERELL, 2006). *F. verticillioides* é um fungo distribuído por todo mundo, está intimamente associado com o milho e suas regiões produtoras, é responsável por provocar podridões de colmo e espiga, causando grandes perdas de produtividade e qualidade de grãos (LESLIE & SUMMERELL, 2008). Além de provocar grandes perdas econômicas decorrentes da podridão de colmos e grãos o fungo *F. verticillioides* pode ainda produzir micotoxinas com efeito tóxicas para animais e humanos (ONO et al., 2010). As micotoxinas produzidas por esse fungo são chamadas fumonisinas e são de três tipos FB1, FB2 e FB3 (SMITH & SEDDON, 1998). Bacon e Nelson, (1994) descreveram a ampla distribuição mundial do fungo *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum* com ocorrência em mais de 90% das áreas com produção de milho, destacando ainda a produção de Fumonisina em 90% do isolados de *F. verticillioides*.

A infecção das plantas de milho por *Fusarium verticillioides* ocorre principalmente de maneira sistêmica a partir do inoculo presente em sementes (OREN et al., 2003). Porém, pode ocorrer também através de ferimentos e infecção do estigma (MUNKVOLD et al., 1997). A presença de *F. verticillioides* na maioria das vezes dá-se de maneira assintomática e isso dificulta que sejam tomadas medidas de controle (MUNKVOLD & DESJARDINS, 1997). Quando os sintomas da doença estão presentes, nas fases iniciais de desenvolvimento da planta ocorre uma alteração da cor externa do colmo, além de uma coloração rosa no interior do colmo. A infecção do colmo e

m estágios avançados podem levar a quebras do mesmo influenciando o número de plantas no campo. Nas espigas a podridão ocorre na base e sua distribuição nos grãos está relacionada com danos mecânicos, feridas causadas por insetos e principalmente a infecção do fungo pelos canais estilo-estigma. (WORDELL FILHO & ELIAS, 2010). A sobrevivência de fungos causadores de podridões de colmo e da espiga está ligada principalmente a restos de cultura e sementes infectadas. (CASA et al., 1998). Cotton e Munkvold, 1998 evidenciaram a presença de micélios dos fungos *F. verticillioides*, *F. subglutinans* e *F. proliferatum* em restos culturais de milho. O *Fusarium verticillioides* pode sobreviver em restos culturais de milho sobre o solo ou enterrados por até 630 dias em condições normais de campo (LIDDELL & BURGESS, 1985) ou até 900 dias em condições de temperaturas mais baixas e clima mais seco (COTTEN & MUNKVOLD, 1998).

2.3 Rotação de cultura e sua importância na sobrevivência de *Fusarium verticillioides*

Entende-se como rotação de culturas a alternância de espécies vegetais anualmente em uma mesma área agrícola, dando preferência para culturas distintas em que ambas tenham propósitos comercial e deixem um efeito residual benéfico para o solo e a cultura sucessora (GONÇALVES et al., 2010). São muitas as vantagens provenientes de um sistema de rotação de culturas, entre elas a melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo, além do controle de plantas daninhas, pragas e doenças (PEREIRA & CRUZ, 1994). Em contraposição a monocultura é caracterizada pelo cultivo da mesma espécie vegetal durante vários ciclos de plantio.

A sobrevivência do inóculo de fungos causadores de podridão de colmo e de espiga é favorecida quando a cultura é mantida sob um sistema de monocultura e plantio direto (ZAMBOLIM et al, 2000). Denti e Reis (2001) evidenciaram uma redução nas incidências dessas doenças quando o milho foi cultivado em rotação de culturas. Segundo Reis et al., 2011 a rotação de culturas pode reduzir a densidade do inóculo do patógeno de duas formas, a primeira é através da redução do alimento na fase saprofítica do patógeno, advindo da eliminação ou diminuição dos restos culturais da espécie vegetal alvo, o que conseqüentemente provoca um aumento da competição por sítios de alimentação com outros microrganismos presentes no ambiente. A segunda forma de redução do inóculo deve-se ao desenvolvimento da supressividade do solo. A rotação de culturas cria condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos antagonistas

que ao longo do tempo vão aumentando sua população até o ponto de controle natural do agente patogênico.

2.4 Supressividade do solo

Conceitualmente, supressividade foi descrita por Baker & Cook (1974) como sendo a capacidade do solo, contendo uma população de determinado patógeno manter o nível da doença baixa, mesmo que em condições ambientais favoráveis e na presença de plantas susceptíveis. Outra definição proposta por Bettiol & Ghini (2005), é que supressividade é um fenômeno natural de alguns solos em evitar o estabelecimento de patógenos e diminuir a sua incidência. Em 1989 em Arkansas e Alabama, nos EUA foi observado pela primeira vez um solo supressivo para o controle de doenças em plantas, foi verificado que a murcha de *Fusarium* em algodoeiro apresentava maior severidade em solos arenosos em relação a solos argilosos (HUBER & SCHNEIDER, 1982). Além de fungos, doenças vegetais causadas por bactérias e nematóides têm grande influência da supressividade do solo (WELLER et al., 2002).

A supressividade pode se manifestar de três formas: o patógeno não se estabelece no solo; o patógeno se estabelece no solo e não causa a doença; o patógeno se estabelece no solo e causa a doença, porém a doença é de baixa intensidade (BAKER & COOK, 1974).

A supressividade pode ser uma característica natural de cada solo ou induzida por fatores bióticos e abióticos (COOK & BAKER, 1983). Esses fatores são, por exemplo, pH do solo, macro e micronutrientes, textura, matéria orgânica, microbiota do solo e principalmente a interação entre os componentes (HORNBY, 1983).

Höper et al. (1995) e Mallet & Maynard (1998) evidenciaram que o aumento no teor de areia no solo reduziu a supressividade a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* em linho e a podridão de raiz causada por *Armillaria* spp. em *Pinus contorta*, demonstrando assim a grande influência da textura do solo na supressividade. Esse fato está relacionado principalmente com a porosidade do solo, que propicia uma maior retenção de umidade e aeração, favorecendo um maior desenvolvimento de fungos, bactérias e outros microrganismos (BETTIOL & GHINI, 2005). As propriedades físicas e químicas do solo podem interferir na supressividade de forma direta, por meio do favorecimento da atividade microbiana, ou indiretamente, quando interferem no ciclo do patógeno. De acordo com Hornby (1983) os solos mais supressivos estão geralmente associados com solos contendo maior teor de matéria orgânica, esse fato ocorre devido à maior atividade

Microbiana, melhor estruturação do solo, aeração e retenção de umidade. Há uma dificuldade na distinção entre os fatores envolvidos na supressividade, e isso ocorre devido à complexidade das interações, tornando difícil também a constatação de indicadores para a supressividade, impossibilitando destacar uma ou mais características responsáveis pela supressividade ou condutividade em todos os solos (ARSHAD & MARTIN, 2002).

O fator mais estudado, entendido e descrito para supressividade é o biológico. A microbiota do solo é composta por diversos indivíduos como, animais, vegetais, fungos, bactérias, protozoários e artrópodes que atuam na supressividade pelos mecanismos de antibiose, parasitismo, competição, predação e indução de resistência, porém, destaca-se o estudo de fungos e bactérias (BETTIOL & GHINI, 2005). A evidência de que os fatores biológicos são os maiores responsáveis pela supressividade é o fato de essa característica poder ser transferida para solos conducentes, sendo que o fenômeno não ocorre se o solo supressivo sofrer uma esterilização (BETTIOL & GHINI, 2005). Eloy et al., (2004) estudando a murcha-de-fusário no feijão Caupi, causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *tracheiphilum* constatou que a severidade da doença decresceu com o aumento da quantidade de solo supressivo adicionado ao solo conducente, evidenciando a capacidade de transferência da supressividade. Quando o solo conducente foi esterilizado e predominou na mistura, os níveis de doença foram superiores aos verificados na ausência da esterilização, indicando que a destruição da microbiota pode estar envolvida no aumento da condutividade do solo.

Duas formas de supressão de doenças podem ocorrer no solo: específica e geral (BAKER & COOK, 1974). A supressão específica de doenças ocorre predominantemente no solo rizosféricos, onde se encontra a maior atividade microbiana devido a liberação de exudatos radiculares, essa supressão é controlada por determinado número de antagonistas (LAMBERS et al., 2009). Por se tratar de um grupo microbiano determinado essa característica pode ser transferida, utilizando-se uma pequena porção de um solo supressivo para um solo conducente. A supressão geral de doenças já envolve um maior número de microrganismos do solo, que atuam por diferentes mecanismos de ação, inibindo uma gama de patógenos. O fato de envolver vários tipos de microrganismos faz com que a supressividade geral seja rapidamente reestabelecida com a ocorrência de distúrbios no solo (WELLER, et al., 2002).

A ocorrência da supressão geral está ligada principalmente a solos não rizosféricos, e é especialmente efetiva contra patógenos que possuam uma fase

saprofítica, ou seja, aqueles que não precisam estar parasitando tecido vegetal vivo. É esperado então, que todos solos possuam intrinsecamente um potencial de inibição de doenças, quando comparado com sua condição estéril (BAKER & COOK, 1974). Os dois tipos de supressão específica e geral podem atuar de forma simultânea em um solo (WELLER, 2002). Ainda sobre supressão geral, Dobbs & Hinson (1953) demonstraram a capacidade de muitos solos controlarem doenças causadas por fungo fitopatogênicos, verificaram uma redução de crescimento de micélios e germinação de esporos, esse evento foi nomeado como fungistase. A fungistase é resultante de um ambiente de grande competição por nutrientes e nichos. A baixa disponibilidade de fontes de carbono no solo pode reduzir a germinação de esporos de fungos fitopatogênicos por meio de sinalização bioquímica (GARBEVA et al., 2011). Em algumas situações a fungistase pode ser vantajosa para o fungo fitopatogênico, pois a inibição da germinação de seus esporos na ausência de nutrientes evita o crescimento em ambientes desfavoráveis, mantendo assim a viabilidade de seus propágulos (GARBEVA et al., 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de condução dos experimentos

O experimento de campo foi realizado no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Agropecuária da Universidade Federal de Lavras (CDCT)- (21°12'S, 44°58'W), que tem como características uma altitude média de 918 metros, precipitação de 815 milímetros acumuladas durante a safra 2017/2018 (Figura 1) e 763 milímetros acumuladas durante a safra 2018/2019(Figura 2), temperatura e umidade relativa média de 24,85°C e 69,89% respectivamente. A instalação dos ensaios foi feita em uma área com histórico de aproximadamente dez anos de monocultivo de milho e incidência de doenças causadas pelo fungo *Fusarium verticillioides*. O experimento teve a duração de duas safras 2016/2017 e 2017/2018, onde foram conduzidas diferentes parcelas com milho, soja e áreas mantidas em pousio. O processamento de amostras, extração de DNA, quantificação em PCR tempo real, testes de sanidade de grãos e supressividade do solo foram realizados no Laboratório de Biocontrole e Laboratório de patologia de sementes do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

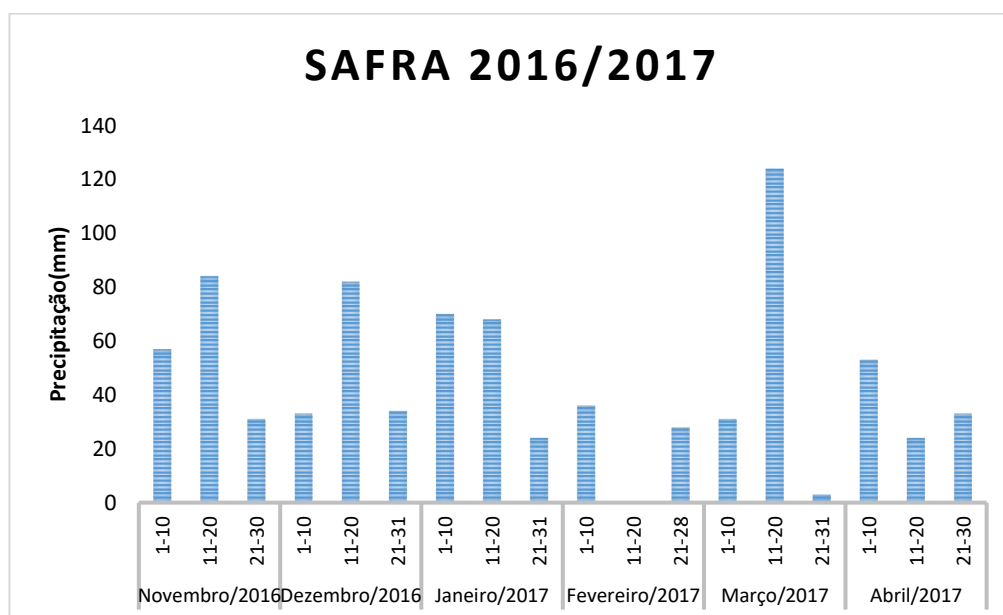


Figura 1 - Precipitação acumulada durante o período da safra 2016/2017.

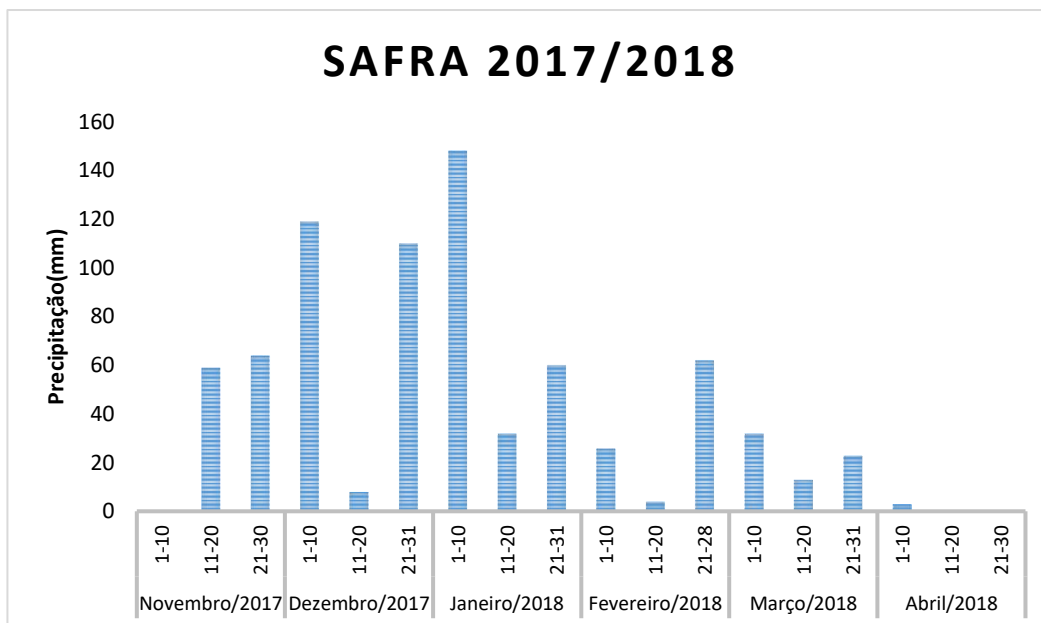


Figura 2 - Precipitação acumulada durante o período da safra 2017/2018.

3.2 Confirmação de *Fusarium verticillioides* na área experimental

Para confirmação da presença do fungo *Fusarium verticillioides* na área, colmos, grãos, palha e espigas remanescentes da safra anterior foram coletados ao acaso e colocados em câmara úmida a temperatura ambiente durante sete dias e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, os mesmos foram observados sob lupa estereoscópica. O fungo *Fusarium verticillioides* foi isolado em placas de petri contendo o meio BDA (20g de ágar, 20g de dextrose e 200g de batata/L) mais bactericida Estreptomicina e colocado em câmara BOD ajustada a temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, após sete dias foram realizadas observações morfológicas das colônias e estruturas do patógeno em microscópio óptico.

3.3 Preparo da área, plantio e manejo

Antes do plantio foi realizado o preparo básico do solo com aração, marcação de linhas com espaçamento de 60 centímetros entre linhas e adubação inicial de 500kg/ha com NPK (08-28-16). A semente de milho utilizada foi o híbrido DKB 390 PRO 2 da empresa Monsanto, com susceptibilidade a *Fusarium verticillioides* (MENDES et al., 2010). No tratamento de sementes foi utilizado o produto Standak Top a fim de reduzir o inóculo de *Fusarium verticillioides*. A densidade de plantio de milho foi de 65 mil plantas/ha. A semente de soja utilizada foi a variedade DS5916 IPRO® da empresa Dow,

com densidade de plantio de 300 mil plantas/ha. Para o milho foram realizadas mais duas adubações com 70 kg/ha cada de NPK (20-00-20) nos estágios fenológicos V3 e V6. Para o controle de plantas daninhas foram realizadas duas aplicações do herbicida Mademato (Glifosato 480g/l) em pós-emergentes na dosagem 2L/ha. Para o controle de manchas foliares foi realizada uma aplicação do produto Piori Xtra na dosagem 300ml/ha. Nas parcelas mantidas em pousio não foram realizados qualquer tipo de manejo. O plantio de milho na safra 2016/2017 foi realizado no dia 17 de novembro e a colheita 22 de março, para as parcelas de soja o plantio foi realizado no dia 24 de novembro e a colheita 10 de abril. Na safra 2017/2018 o plantio e colheita do milho foram realizados dia 21 de novembro e 13 de abril respectivamente, a soja foi plantada dia 13 de novembro e colhida dia 13 de abril.

3.4 Delineamento Experimental

Foram conduzidos cinco diferentes tratamentos durante a safra de 2016/2017 e 2017/2018, os tratamentos consistiram em diferentes manejos na rotação de cultura como apresentado na Tabela 1. Foi utilizado o delineamento em blocos inteiramente casualizados com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por 5 linhas (espaçamento de 0,6 metros) x 5 metros de comprimento.

Tabela 1 - Distribuição das culturas nas safras 2016/2017 e 2017/2018 para cada tratamento.

Tratamentos	2016/2017	2017/2018
T1	Soja	Milho
T2	Soja	Soja
T3	Pousio	Soja
T4	Pousio	Milho
T5	Milho	Milho

3.5 Coleta, distribuição e processamento de amostras

Antes da implantação dos tratamentos na área experimental, colmos de milho remanescentes da safra anterior foram coletados aleatoriamente e misturados formando uma amostra composta. Desta amostra quatro repetições foram retiradas e armazenadas para realização da quantificação do inóculo inicial do patógeno, o restante dos colmos coletados foi dividido entre as parcelas e mantidos dentro de sacos de nylon com aberturas de aproximadamente 2 mesh durante todo o ciclo da cultura, esses sacos tiveram a função de evitar a perda dos restos culturais expostos a intempéries no campo. Após o ciclo da cultura essas amostras foram retiradas do campo, picadas em pedaços de 1-2 centímetros e armazenadas a -20°C, uma sub-amostra desse material congelado foi retirada e após passar pelo processo de liofilização foi moída utilizando-se peneira de malha 1mm mesh. O material processado foi novamente mantido a -20° até a realização da extração de DNA. Para a segunda safra a metodologia foi a mesma, diferindo da primeira safra somente nos colmos coletados para quantificação inicial, esses foram coletados e armazenados separadamente para cada parcela.

3.6 Extração de DNA e PCR em tempo real

Duas sub-amostras de 40mg foram pesadas em tubos eppendorfs para cada parcela para realização da extração de DNA. Foi utilizado o kit de extração Wizard® Genomic DNA Purification da empresa Promega, seguindo-se a metodologia proposta pela empresa. Após a extração as amostras foram analisadas em um espectrofotômetro NanoDrop® 2000 da Thermo Scientific e das duas amostras foi selecionada a melhor, levando-se em consideração a amostra com maior quantidade de DNA disponível. Em seguida, a melhor amostra foi duplicada e submetida a PCR em tempo real. Foram utilizados os primers Verpro-F (5' GCCATGCGTCACGGCCAC 3') e VERTI-R (5' GGAGTAGACAGGGTATTTGC 3') específicos para a espécie *Fusarium verticillioides* produtoras de fumonisinas descritos por C. Waalwijk et al., (2008). A metodologia foi adaptada, onde para cada reação foi adicionado 2,0 µl da amostra a 23 µl da mistura de reação, na mistura estão inclusos 12,5 µl do kit SYBR Green PCR (Qiagen), 1,25 µM de cada primer e 8 µM de água ultrapura. O ciclo teve início a 95°C por 5 minutos, desnaturação a 95°C durante 25 segundos, anelamento a 58°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, sendo um total de 40 ciclos. Para obtenção das curvas padrões foram feitas seis diluições em serie do DNA do patógeno alvo, a partir da amostra inicial

que apresentava a quantidade de 200 ng/uL, além disso foi utilizado um controle negativo contendo apenas água ultrapura. A leitura foi feita no aparelho termociclador Rotor Gene 6000(Qiagen). Foram realizadas sete reações de qPCR no total, para cada reação foi realizada uma análise da curva melting visando a confirmação da especificidade de amplificação do primer. Foi utilizado o método de quantificação absoluta onde as amostras são comparadas com curvas padrão geradas a partir de diluições feitas em uma amostra do DNA alvo previamente quantificada. Foi realizado um teste de medias entre os tratamentos com as concentrações obtidas.

3.7 Teste de supressividade do solo a *Fusarium verticillioides*

No final de cada safra foram coletadas sub-amostras de solo em cinco pontos diferentes para cada parcela dos tratamentos no campo, essas formaram uma amostra composta que foi utilizada no teste de supressividade. O teste foi realizado utilizando-se a metodologia de iscas propostas por Pinto (2016). Foram retirados 20 gramas de solo da amostra composta, colocadas em placas de petri sendo infestadas com 5 mL de suspensão de conídios na concentração 1×10^5 do patógeno *Fusarium verticillioides* e mantidas durante sete dias em BOD ajustada a temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Posteriormente foram colocadas sobre o solo sete iscas, que consistiam em colmos de milho de aproximadamente 1-2cm de diâmetro, autoclavados e cortados. As placas retornaram para BOD durante mais sete dias. O solo foi mantido durante todo o experimento a 60% da capacidade de campo. Foram também utilizadas duas testemunhas a primeira foi representada por um solo autoclavado sem a inoculação do patógeno e a segunda consistia em um solo autoclavado com a inoculação do patógeno. Foi realizada ao final do experimento a contagem de iscas colonizadas pelo patógeno, os resultados foram expressos pela porcentagem de iscas colonizadas.

3.8 Produtividade e Peso de mil grãos (PMG)

Para a estimativa de produtividade final de cada tratamento uma colheita manual foi realizada em cada repetição de cada tratamento, numa área de 7,2m², correspondente as 3 linhas centrais de quatro metros, retirando 0.5 metros de cada extremidade. As amostras foram trilhadas, secadas e pesadas para determinação do peso bruto (kg), após a pesagem a umidade foi corrigida a 13% para obtenção do peso final. De cada uma das quatro amostras foi extraída uma sub-amostra de 400 grãos para o cálculo do peso médio de 1000 grãos. Os dados de produtividade foram convertidos a Kg/ha e expressos nessa

unidade. O PMG foi obtido pela divisão da sub-amostras de 400 grãos em quatro sub-amostras de 100 grãos cada, essas foram pesadas separadamente e a partir do peso obtido foi feito uma média dos pesos e multiplicado por 10x, os valores para o peso de mil grãos foram expressos em gramas. (adaptado de BRASIL, 2009b).

3.9 Porcentagem de grãos ardidos e incidência de *Fusarium verticillioides*

Para avaliação de grãos ardidos de milho foram separadas sub-amostras de 400 grãos por repetição do tratamento da amostra principal, esses grãos foram avaliados visualmente, sendo considerados como grãos ardidos quando apresentavam pelo menos um quarto de sua superfície descolorida. Baseado no número total de grãos ardidos foi calculado a porcentagem de incidência desses grãos (BRASIL, 1996). Para a avaliação de incidência pelo teste de papel filtro "Blotter Test" foram separadas sub-amostras de 100 grãos por repetição do tratamento, esses grãos foram desinfestação superficial com solução de hipoclorito de sódio a 1% durante 3 minuto, Álcool 70% durante 30 segundos, lavagem com água destilada. Os grãos foram distribuídos em quatro placas de petri (15cm) contendo 3 discos de papel filtro sobrepostos, umedecidos com solução ágar-água 1%. As placas foram mantidas em câmara incubadora pelo período de 24 horas sob temperatura de 20 ± 2 °C e, em seguida foram colocadas em um congelador (-20 °C) por 24 horas. Após esse processo de congelamento as placas foram mantidas sob lâmpadas de luz fluorescente branca, a distância de 30-40 cm, em câmaras com fotoperíodo de 12 horas pelo período de 7 dias a temperatura de 20 ± 2 °C. Os grãos foram examinados individualmente com o uso de uma lupa de 30-80X, algumas vezes foi necessário a utilização de um microscópio óptico para correta identificação do fungo *Fusarium verticillioides*. O resultado foi obtido através da contagem no número de grãos com a presença do patógenos, esse valor foi representado pela porcentagem de grãos infectados (BRASIL, 2009a)

3.10 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados. As variáveis significativas no teste F da análise de variância foram comparadas pelo teste de médias Scott-Knott ($P=0,05$), com auxílio do software Sisvar 5.6. (FERREIRA, 2011). As comparações de médias entre diferentes safras para o teste de supressividade foram realizadas utilizando o teste t de Student ($P<0.05$) com a ferramenta estatística do software SigmaPlot 12.0.

4 RESULTADOS

4.1 Produtividade de grãos de milho

Na Figura 3 está apresentada a produtividade média de milho em quilogramas por hectare, nas safras de 2017 e 2018.

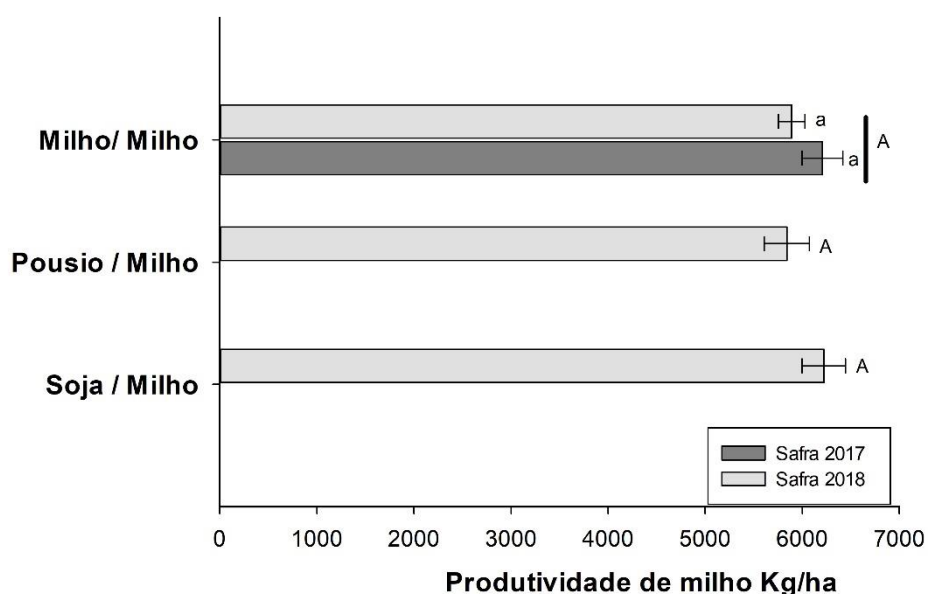


Figura 3 - Produtividade média de milho em quilogramas por hectare nas safras de 2017 e 2018 em rotação com soja e áreas em pousio.

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

Na primeira safra a produtividade do monocultivo de milho (T5) foi avaliada, sendo observado uma produtividade média de 6207,57 Kg/ha. Na segunda safra foi possível observar a produtividade de milho em 3 diferentes tratamentos, monocultivo de milho (T5) 5891,43 Kg/ha, rotação milho/soja (T1) 6221,97 Kg/ha e rotação milho/pousio (T4) 5841,43 Kg/ha. Não houve uma diferença estatística significativa segundo a análise de variância na produtividade (Tabela 2, Apêndice A) entre os tratamentos na safra 2018 e também entre as duas diferentes safras para o monocultivo de milho.

4.2 Peso de mil grãos de milho

A Figura 4 apresenta a média de peso de mil grãos de milho em gramas, nas safras de 2017 e 2018.

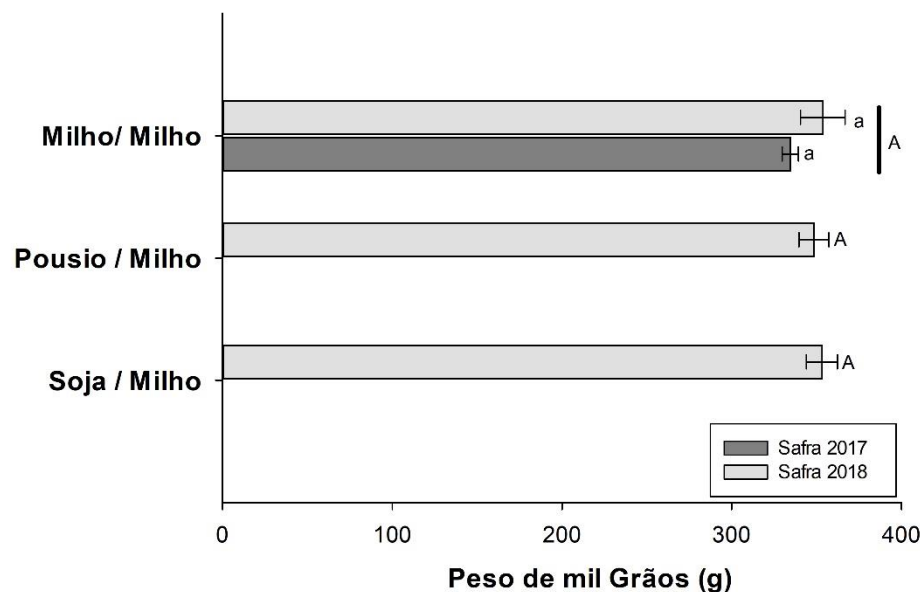


Figura 4 - Média de peso de mil grãos de milho em gramas para três sistemas de cultivo durante as safras 2016/2017 e 2017/2018.

*Medias seguidas pela mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

Segundo a análise de variância (Tabela 3, Apêndice B) não foram observadas diferenças significativas para o peso de mil grãos de milho entre os tratamentos na safra 2018 e entre as duas safras para o tratamento com monocultivo de milho (T5). Na primeira safra, T5 apresentou o peso médio de mil grãos 334,52 gramas, enquanto na segunda safra o peso médio de mil grãos foi 353,62 gramas. Ainda para segunda safra, rotação milho/soja (T1) e rotação milho/pousio (T4) apresentaram o peso médio de mil grãos 353,1 e 348,4 gramas respectivamente.

4.3 Porcentagem de grãos ardidos em milho

Na Figura 5 está apresentada a porcentagem de grãos ardidos em milho, nas safras de 2017 e 2018.

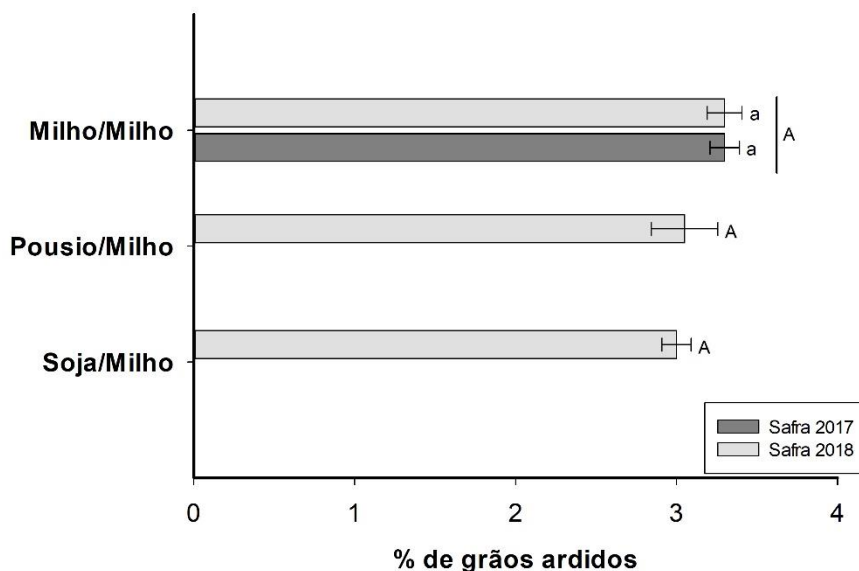


Figura 5 - Porcentagem de grãos ardidos em milho nas safras 2016/2017 e 2017/2018 no sistema de monocultivo de milho, rotação soja/milho e pousio/ milho.

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

A porcentagem de grãos ardidos em todos os tratamentos, em ambas as safras ficaram dentro do padrão de qualidade adotado pelo mercado interno, abaixo de 6% de grãos ardidos (MENEGAZZO, 2000). Na primeira safra T5 apresentou 3,3% de grãos ardidos. Na segunda safra os tratamentos T5, T1 e T4 apresentaram 3,3%, 3% e 3,05% respectivamente. Não houve diferença significativa observada na análise de variância (Tabela, Apêndice C) para porcentagem de grãos ardidos entre os tratamentos na safra 2018 e também entre ambas as safras para o tratamento T5.

4.4 Incidência de *Fusarium verticillioides* em Grãos de milho ``Blotter Test``

O resultado de avaliação da incidência de *Fusarium verticillioides*, obtido através do método de ``Blotter Test`` está representado pela Figura 6.

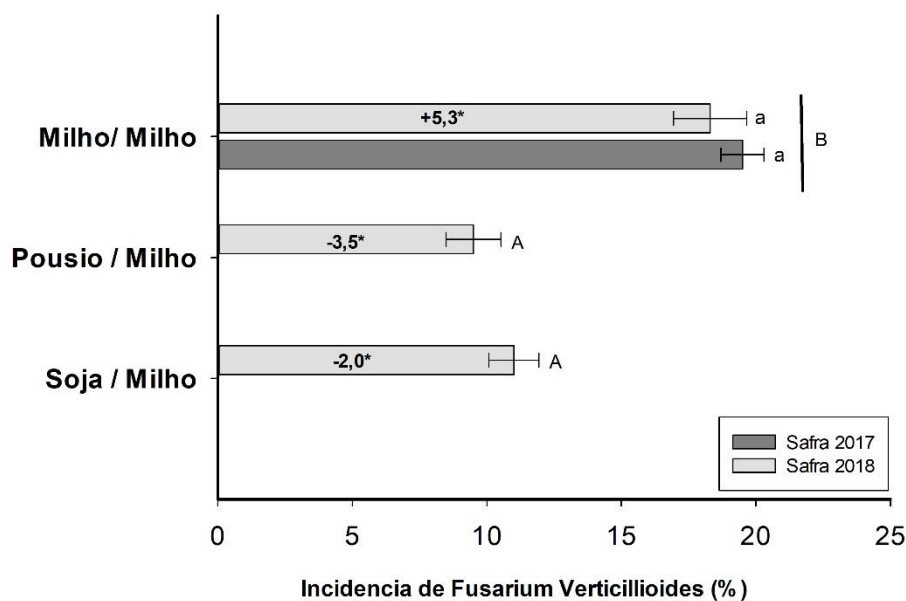


Figura 6 - Incidência de *Fusarium verticillioides* em grãos de milho avaliados pelo método "Blotter test."

*Diferenças em porcentagem da média de incidência de *F. verticillioides* na safra 2018.

**Medias seguidas pela mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

A análise de variância (Tabela 5, Apêndice D) indicou que para o teste de incidência "Blotter test." existe uma diferença estatística entre os tratamentos na safra 2018, é possível observar uma redução nas porcentagens de grãos infectados com *Fusarium verticillioides*, quando houve a rotação milho/soja (T1) foi observado uma média de 9,5% grãos infectados e milho /pousio (T4) uma média de 11 %. As médias de porcentagem para o tratamento monocultivo (T5) de milho foram 19,5% e 18,25% para as safras 2016/2017 e 2017/2018 respectivamente. Não houve uma diferença significativa na porcentagem de grãos infectados entre as duas safras para o tratamento T5.

4.5 Quantificação de *Fusarium verticillioides* em restos culturais de milho.

Para cada reação de DNA em tempo real foram realizadas avaliações prévias da qualidade e especificidade das amostras analisadas e das amostras utilizadas para

montagem da curva padrão. Foi levado em conta a eficiência de cada reação como demonstrado na figura 7

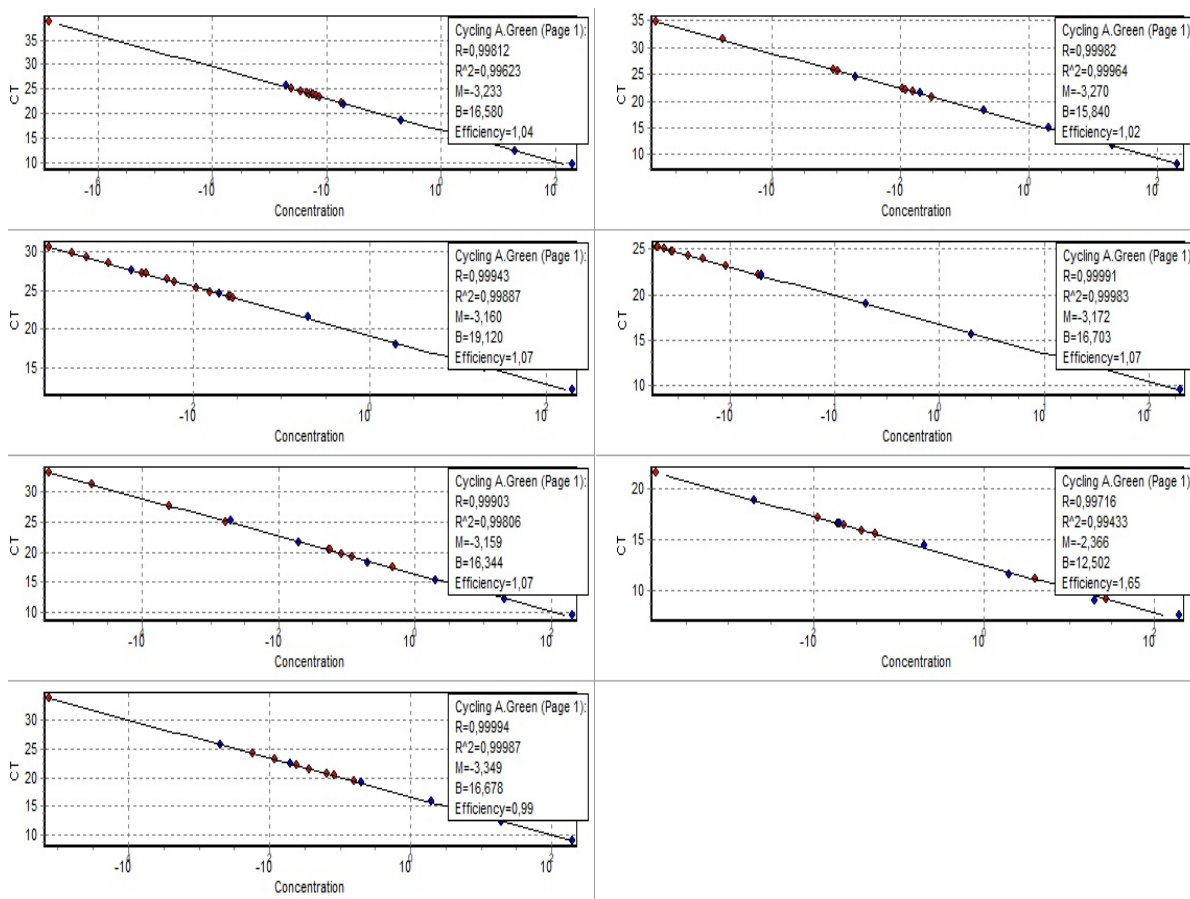


Figura 7 - Eficiência das reações de PCR em tempo real

As quantidades de DNA para cada tratamentos ao longo das duas safras são demonstradas pela figura 8.

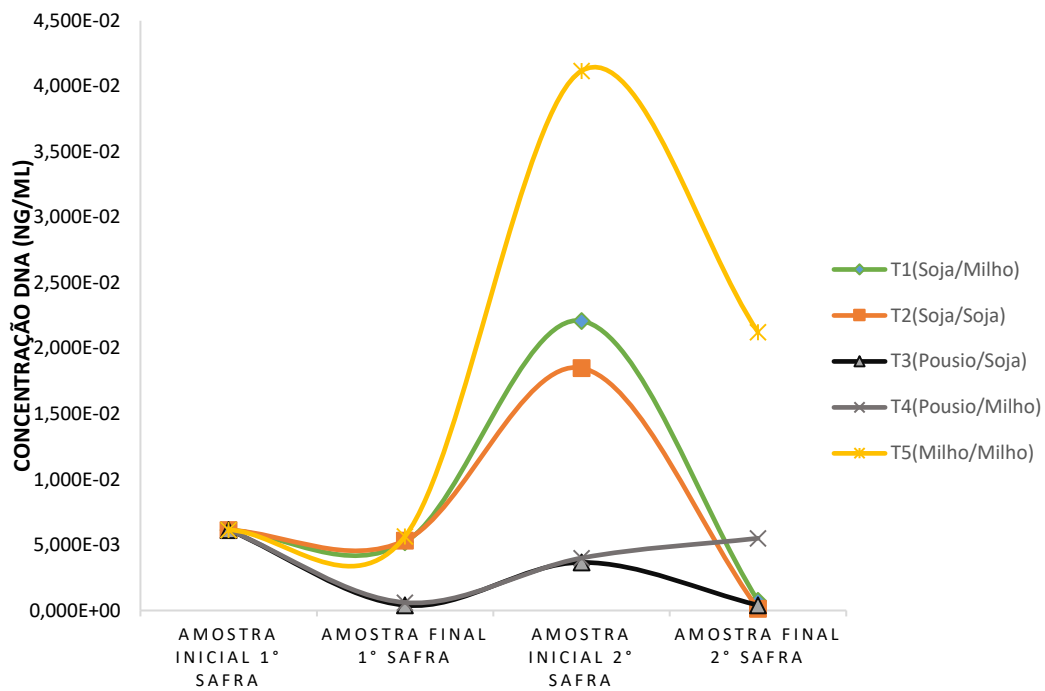


Figura 8 - Média da concentração de DNA de *Fusarium verticillioides* em relação ao tempo para cada tratamento.

O resultado de concentração de DNA de *Fusarium verticillioides*, obtido através da PCR em tempo real para primeira safra 2016/2017 está representado pela Figura 9.

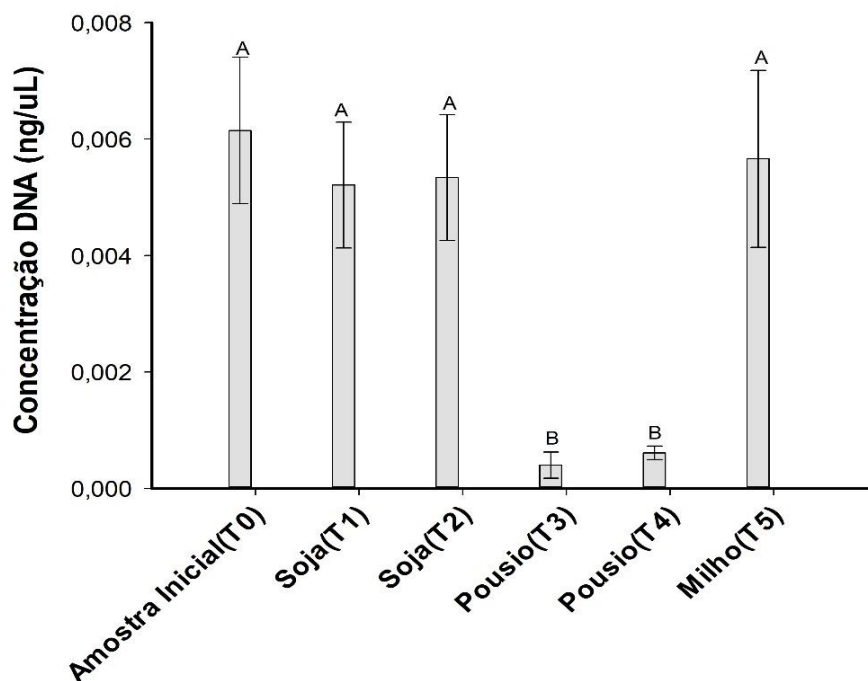


Figura 9 - Média da concentração de DNA de *F. verticillioides* em amostras na primeira safra 2016/2017.

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

Partindo de uma mesma amostra inicial (T0) os tratamentos que apresentavam o plantio de soja (T1 e T2) e monocultivo de milho (T5) não apresentaram diferença significativa (Tabela 6, Apêndice E) da testemunha ao final da 1ª safra. Enquanto T4 e T5 que foram mantidos em pousio tiveram uma redução na quantidade de DNA detectados e foram diferentes estatisticamente da amostra inicial. A Figura 10 apresenta a diferença de concentração de DNA de *Fusarium verticillioides* dentro de cada tratamento para o final da safra 2016/2017 e início da safra 2017/2018, além da diferença entre tratamentos dentro de uma mesma safra.

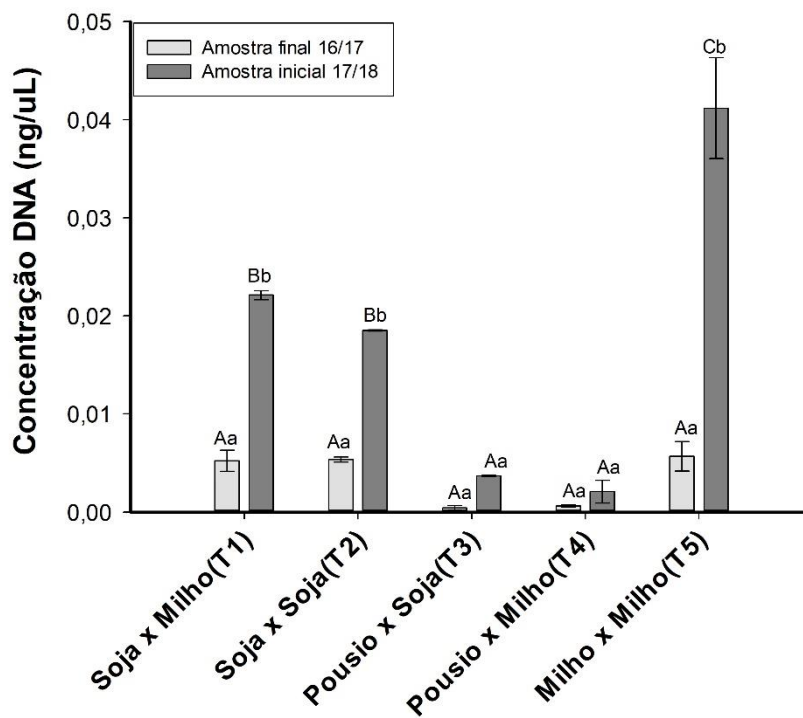


Figura 10 - Comparação entre médias das amostras finais da safra 2016/2017 e iniciais da safra 2017/2018.

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula dentro de cada safra são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada tratamento são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

As amostras iniciais da safra 2017/2018 foram coletadas dentro de cada tratamento e houve um aumento em relação à amostra do final da 1ª safra para os tratamentos T1, T2 e T5. Esse aumento durante a entressafra também foi observado para os tratamentos T3 e T4, entretanto foi em menor quantidade e não houve uma diferença significativa (Tabela 7, Apêndice F) entre as amostras. A figura 11 apresenta a diferença de concentração de DNA de *Fusarium verticillioides* dentro de cada tratamento para o início da safra 2017/2018 e final da safra 2017/2018, além da diferença entre tratamentos dentro de uma mesma safra.

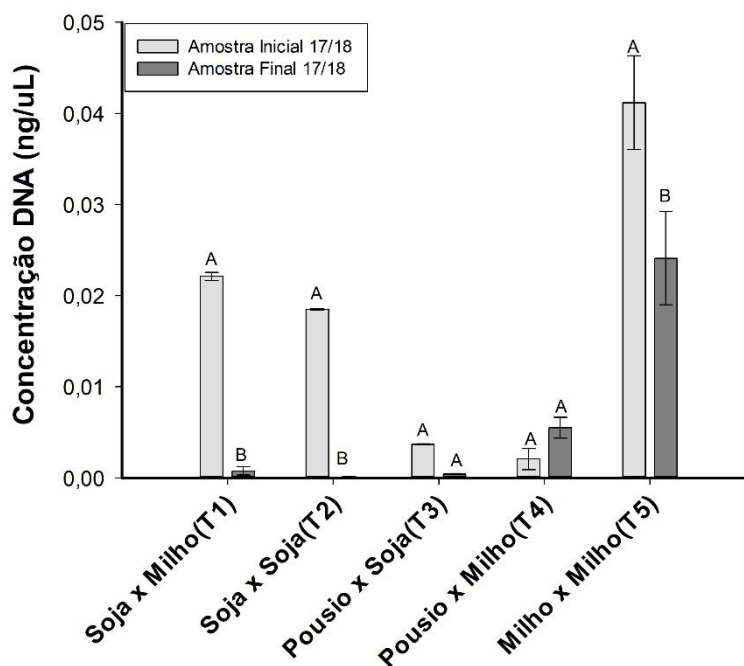


Figura 11 - Comparação entre amostra final e inicial da safra 2017/2018.

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula dentro de cada safra são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada tratamento são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

Os tratamentos rotação milho/soja (T1), monocultivo de soja (T2), reduziram a quantidade de DNA a níveis muito baixos no final da safra 2ª safra rotação pousio/soja (T3) também manteve a quantidade de DNA baixa. A rotação pousio/milho (T4) apesar de um pequeno aumento não demonstrou uma diferença estatisticamente significativa (Tabela 8, Apêndice G). No tratamento com monocultivo de milho (T5) foi observada uma redução em relação à amostra inicial, porém a quantidade de DNA foi mantida em maiores quantidades. A figura 12 apresenta um comparativo entre os tratamentos ao final da segunda safra 2017/2018.

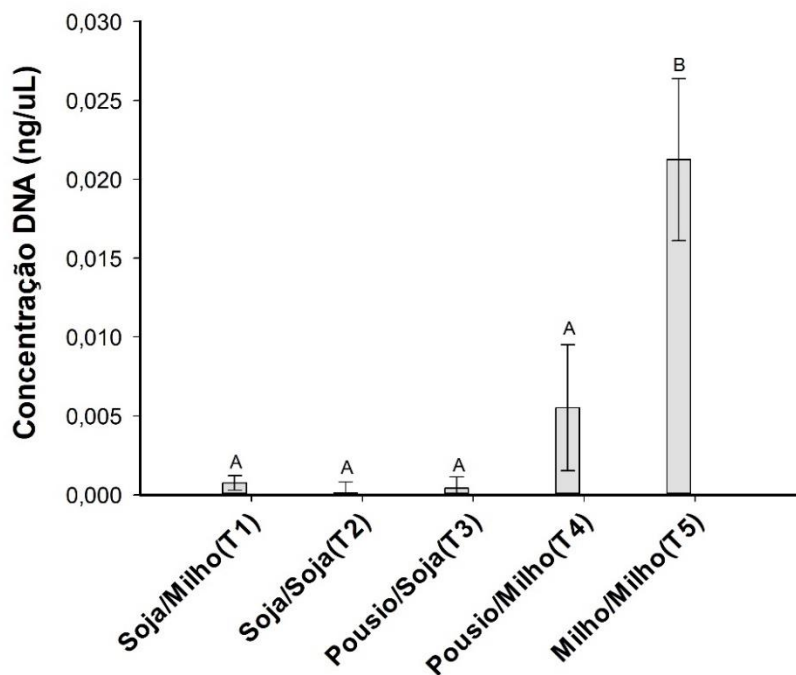


Figura 12 - Média da quantidade de DNA entre tratamentos ao final da segunda safra

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

É possível observar que o tratamento T5 foi diferente estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 9, Apêndice H), apresentando uma maior concentração de DNA nas amostras no final da segunda safra.

4.6 Teste de Supressividade para *Fusarium verticillioides*

O teste de supressividade do solo avalia a porcentagem de iscas colonizadas pelo patógeno alvo, esse fator é inversamente proporcional a supressividade do solo, isso significa que quanto maior a porcentagem de iscas colonizadas menor será a capacidade supressiva do solo ao patógeno alvo. A diferença na porcentagem de iscas colonizadas entre os tratamentos para as duas safras está representada pela Figura 13, enquanto a

variação na porcentagem de iscas colonizadas entre as duas safras pode ser demonstrada pela Figura 14.

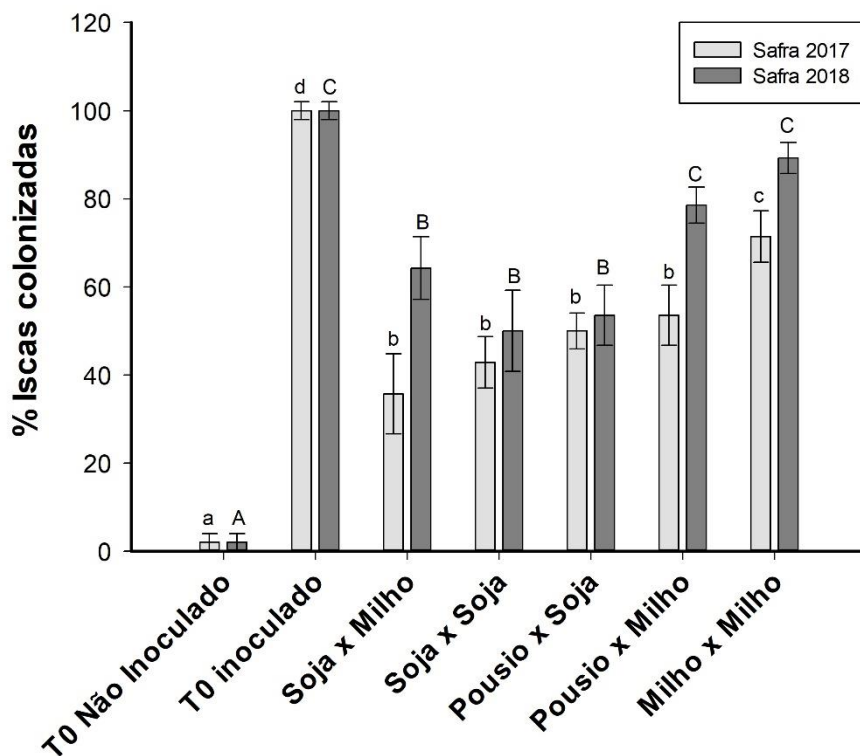


Figura 13 - Porcentagem de iscas colonizadas no teste de supressividade de solo nas safras 2017 e 2018.

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula ou mesma letra minúscula são significativamente semelhantes $P < 0,05$ de acordo com o teste Scott-Knott.

*T0 = testemunha

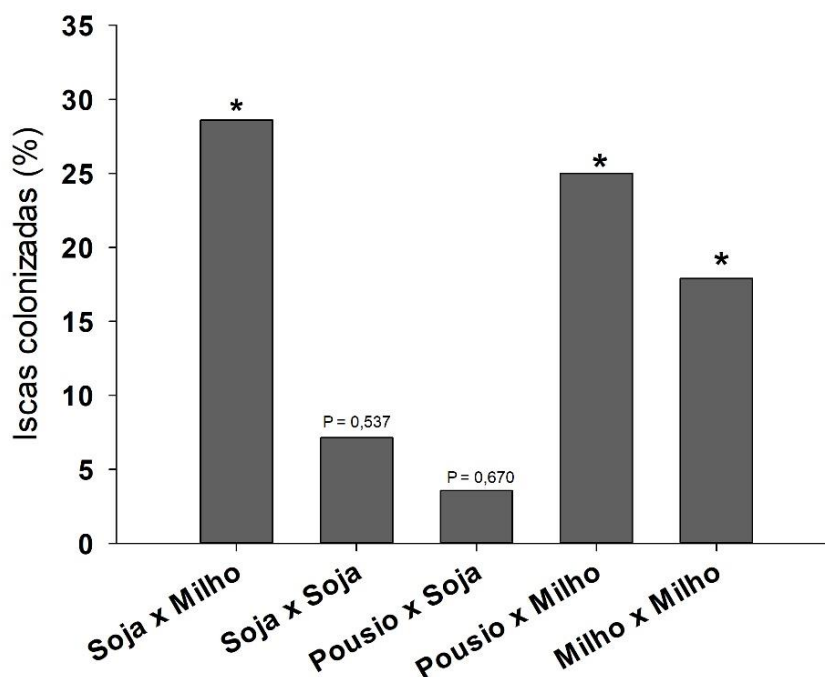


Figura 14 - Diferença na porcentagem de iscas colonizadas entre as safras 2017/2018 e 2016/2017.

* Diferença estatística significativa pelo teste t de Student ($P < 0.05$).

Para a safra 2016/2017 a análise de variância (Tabela 10, Apêndice I) demonstrou que existe diferenças significativas entre os tratamentos e as testemunhas, inoculada (100%) e não inoculada (0%). Dentre os tratamentos foi possível observar uma maior porcentagem de iscas colonizadas quando o sistema de manejo presente era o monocultivo de milho (71,25%), isso indica que ocorreu um aumento de supressividade contra *Fusarium verticillioides* em todos os tratamentos que tiveram o ciclo de monocultivo quebrado. Na safra 2017/2018 a análise de variância (Tabela 11, Apêndice J). conseguiu separar somente a testemunha não inoculada de todos os tratamentos. A testemunha inoculada se agrupou com os tratamentos pousio/milho (78,5%) e milho/milho (89,5%) ambos com as maiores porcentagens de iscas colonizadas. A rotação soja/milho (64%) juntamente com os tratamentos soja/soja (50%) e pousio/soja (53.5%)

tiveram uma diminuição significativa da porcentagem de iscas colonizadas, demonstrando um aumento da supressividade dos solos para esses tratamentos contra *F. verticillioides*. Em relação a variação da supressividade nas diferentes safras para os tratamentos (Figura 13) foi possível observar um aumento na porcentagem de iscas colonizadas nos tratamentos em que foi plantado milho na safra 2018, indicando uma possível associação da presença de milho na área com a diminuição da supressividade no solo, é importante destacar também o aumento da porcentagem de iscas colonizadas no monocultivo de milho.

5 DISCUSSÃO

Em relação a produtividade, apesar da diferença não significativa para os tratamentos é possível observar um aumento quando foi realizada a rotação com o cultivo de soja e uma diminuição da produtividade quando a área foi mantida em pousio. Trabalhos de manejo de rotação de cultura demandam um maior tempo para que ocorram diferenças significativas como demonstrado por Lombardi et al. (2002), que observaram com seu trabalho de 12 anos um ganho de produtividade ao longo dos anos proporcionado pelo plantio direto e rotações de culturas.

O fator que pode ter levado a redução da produtividade em rotação com pousio é o aumento do banco de sementes de plantas daninhas, que ocasionou uma maior dificuldade de controle da safra seguinte em relação a rotação de culturas com soja. Fabian (2009), também observou um decréscimo da produtividade em plantios de milho onde previamente a área foi mantida em pousio. O mesmo ocorre para o peso de mil grãos, a diferença demanda um maior tempo de cultivo, tendo diversos trabalhos de curta duração não demonstrado uma alteração significativa no PMG.

Não foi observado uma diferença significativa entre os tratamentos para porcentagem de grãos ardidos no teste visual entretanto quando foi avaliado a incidência de *Fusarium verticillioides* pelo método do papel filtro "Blotter test" foi possível visualizar melhor a realidade da infestação do patógeno e observar uma diferença significativa entre os tratamentos. Ambos os tratamentos com rotação apresentaram uma redução na porcentagem de grãos infectados. Trento et al. (2002) obtiveram resultados semelhantes estudando o fungo *F. moniliforme*, que hoje engloba os fungos conhecidos como *F. proliferatum*, *F. subglutinans* e *F. verticillioides* encontrando uma relação da rotação de culturas com a menor incidência dos patógenos em grãos de milho. Esse resultado pode ser explicado pela sobrevivência maior dos patógenos em restos culturais no monocultivo, como foi observado por Denti e Reis (2001).

Os dados de quantificação tiveram sua especificidade assegurada pelas curvas melting das reações, como Tomaz et al. (2016) destacam para uma boa especificidade do material utilizado são desejadas curvas com um único pico, o que ocorreu para todas as reações, além disso a eficiência das reações foi destacada pelas análises do software utilizado. Com relação aos dados foi possível observar uma redução na quantidade de DNA encontrado em todos os tratamentos exceto o monocultivo de milho, a rotação com soja manteve a quantidade de DNA baixa, enquanto no pousio houve um pequeno

aumento nessa quantidade, entretanto, esse aumento não foi estatisticamente significativo. É importante aqui destacar o aumento da quantidade de DNA durante a entressafra isso pode ter sido provocado pela colonização do fungo no material disponível e na falta de outros substratos. O efeito da redução da quantidade de DNA de *Fusarium verticillioides* na rotação Soja/Milho e Soja/Soja foi notado na segunda safra. Para a soja/milho a redução ocorreu mesmo na presença da cultura do milho.

Estudos anteriores demonstram a importância da rotação de culturas na composição bacteriana, comunidade de fungos e fauna do solo (PERALTA et al. 2018; MCLAUGHLIN e MINEAU, 1995). No teste de supressividade as testemunhas se comportaram como o esperado, com a ausência de colonização no solo autoclavado não inoculado e 100% de infestação no mesmo solo inoculado, isso demonstra claramente o efeito da supressividade do solo na diminuição da incidência do patógeno quando se compara com os demais tratamentos. Vários trabalhos demonstraram a importância microbiana do solo para a supressividade a diversas doenças. Solos esterilizados não tem capacidade supressiva e facilitam a atuação de patógenos (GARBEVA et al. 2006 ,BRUSSAARD et al. 2007 , POSTMA et al. 2008). Os sistemas de rotação foram efetivos no aumento da supressividade do solo contra *F. verticillioides*. Estudos demonstraram o potencial da rotação de cultura no controle de diversos patógenos com *Fusarium spp.*, *Phytophthora* e *Rhizoctonia spp.*, através do mecanismo de supressividade do solo (REYNOLDS et al. 2003 , RAAIJMAKERS et al. 2009 , VAN DER PUTTEN et al. 20016).

A presença do milho no plantio reduz a supressividade do solo, provavelmente por um efeito estimulante ou benéfico para o fungo *F. verticillioides*, entretanto no sistema onde houve rotação com a soja a redução dessa supressividade foi menor. A rotação com o pousio não conseguiu manter um efeito duradouro e a redução da supressividade foi observada com a volta do plantio de milho, Peralta et al. (2018), observou uma redução no potencial de supressão de patógenos em solos mantido em pousio em comparação com rotações de culturas. Em áreas onde foi conduzido o plantio de soja/soja o aumento da supressividade foi grande e constante demonstrando uma possível estabilidade dos microrganismos antagonicos a *F. verticillioides* presentes. Bennett et al. (2012), destaca a importância da rotação de culturas na abundancia do patógeno quando culturas não-hospedeiras estão no sistema de rotação.

6 CONCLUSÕES

As medidas de manejo adotadas foram eficientes na redução da quantidade de DNA do patógeno *Fusarium verticillioides* em comparação com o sistema de monocultivo de milho.

A supressividade do solo contra *F. verticillioides* é aumentada e tem maior duração quando a rotação de culturas é realizada com a soja. O pousio apesar de ter um efeito no aumento da supressividade não consegue manter a mesma com o retorno do plantio de milho.

O monocultivo de milho aumenta e mantém elevada a quantidade de DNA do patógeno *F. verticillioides*, além de exercer um efeito negativo sobre a supressividade do solo a esse patógeno.

Foi possível observar um potencial da rotação de culturas no controle de doenças de solo, entretanto estudos mais aprofundados para identificação e manejo do microbioma são necessários.

REFERÊNCIAS

- ARSHAD, Muhammad A.; MARTIN, S. Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 88, n. 2, p. 153-160, 2002.
- BACON, Charles W.; NELSON, Paul E. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. **Journal of Food Protection**, v. 57, n. 6, p. 514-521, 1994.
- BAKER, K. F. et al. **Biological control of plant pathogens**. WH Freeman and Company., 1974.
- BENNETT, Amanda J. et al. Meeting the demand for crop production: the challenge of yield decline in crops grown in short rotations. **Biological Reviews**, v. 87, n. 1, p. 52-71, 2012
- BETTIOL, Wagner; GHINI, Raquel. Solos supressivos. **Embrapa Meio Ambiente- Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2005.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Manual de análise sanitária de sementes**. Mapa/ACS, 2009a.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. 2009b.
- BRASIL. Portaria n. 11 de 12 de abril de 1996: Estabelece critérios complementares para classificação do milho. **Diário oficial da União**, n. 72, 1996.
- BRUSSAARD, Lijbert; DE RUITER, Peter C.; BROWN, George G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 121, n. 3, p. 233-244, 2007.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L. Fungos associados à semente de milho produzida nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 370-373, 1998.
- CASTRO, Paulo Roberto de Camargo; KLUGE, Ricardo Alfredo; SESTARI, Ivan. **Manual de fisiologia vegetal: fisiologia de cultivos**. 2008.
- CHUNG, Gyuhwa; SINGH, Ram J. Broadening the genetic base of soybean: a multidisciplinary approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, n. 5, p. 295-341, 2008.
- CONAB- **Acompanhamento de safra brasil**. grãos, v6 Safra 2018/2019- Terceiro levantamento, Brasília, p. 1-127 Dezembro 2018.
- COOK, R. James et al. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. 1983.

COTTEN, T. K.; MUNKVOLD, G. P. Survival of *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. subglutinans* in maize stalk residue. **Phytopathology**, v. 88, n. 6, p. 550-555, 1998.

DENTI, EIDI ALFREDO; REIS, ERLEI MELO. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência das podridões da base do colmo e no rendimento de grãos do milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 635-639, 2001.

DOBBS, C. G.; HINSON, W. H. A widespread fungistasis in soils. **Nature**, v. 172, n. 4370, p. 197, 1953.

ELLER, Magen S.; PAYNE, Gary A.; HOLLAND, James B. Selection for reduced *Fusarium* ear rot and fumonisin content in advanced backcross maize lines and their topcross hybrids. **Crop science**, v. 50, n. 6, p. 2249-2260, 2010.

ELOY, Arlinda P. et al. Natureza da supressividade de solo à murcha-de-fusário do caupi e dinâmica populacional de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 2, p. 209, 2004.

FABIAN, Adelar José. Plantas de cobertura: efeito nos atributos do solo e na produtividade de milho e soja em rotação. 2009.

FANCELLI, A. L. Tecnologia da produção. In: FANCELLI, A. L.; LIMA, U. A. **Milho: produção, processamento e transformação industrial**. São Paulo: Secretaria da Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia, 1983. p. 1-68.

FAO - **FOOD EN AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**. 2013.

FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GARBEVA, Paolina et al. Fungistasis and general soil biostasis—a new synthesis. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 3, p. 469-477, 2011..

GARBEVA, P. et al. Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* AG3. **Environmental Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 233-246, 2006

GONÇALVES, Sergio Luiz et al. Decomposição de resíduos de milho e soja em função do tempo e do manejo do solo. **Londrina: Embrapa Soja**, 2010.

HÖPER, H.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium wilt* of flax. **Soil biology and Biochemistry**, v. 27, n. 7, p. 955-967, 1995.

HORNBY, David. Suppressiveness of soils. **Annual review of phytopathology**, v. 21, n. 1, p. 65-85, 1983.

HUBER, D. M. The description and occurrence of suppressive soils. **Suppressive soils and plant disease**, p. 1-7, 1982.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=314223>. Acessado em: 12/05/2017

JOSEFSEN, Mathilde H. et al. Diagnostic PCR: comparative sensitivity of four probe chemistries. **Molecular and cellular probes**, v. 23, n. 3-4, p. 201-203, 2009.

LAMBERS, Hans et al. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. **Plant and soil**, v. 321, n. 1-2, p. 83-115, 2009.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. The fusarium laboratory manual. 2006. **Revista Chilena de Infectología**, v. 31, p. 85-86, 2006.

LESLIE, John F.; SUMMERELL, Brett A. **The Fusarium laboratory manual**. John Wiley & Sons, 2008.

LIDDELL, C. M.; BURGESS, L. W. Survival of *Fusarium moniliforme* at controlled temperature and relative humidity. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 84, n. 1, p. 121-130, 1985.

LOMBARDI-NETO, Francisco et al. Rotação de culturas: análise estatística de um experimento de longa duração em Campinas (SP) Crop rotation: a statistical analysis of an eleven years experiment in Campinas, State of São Paulo, Brazil. **Bragantia**, v. 61, n. 2, p. 127-141, 2002.

LEYVA-MADRIGAL, Karla Y. et al. *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in Northern Sinaloa, Mexico. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 6, p. 486-497, 2015.

MALLET, K. I.; MAYNARD, D. G. Armillaria root disease, stand characteristics, and soil properties in young lodgepole pine. **Forest Ecology and Management**, v. 105, n. 1-3, p. 37-44, 1998.

MCLAUGHLIN, Alison; MINEAU, Pierre. The impact of agricultural practices on biodiversity. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 55, n. 3, p. 201-212, 1995.

MENDES, M. C.; VON PINHO, R. G.; MALLMANN, C. A.; FARIA, M V.; JUNIOR, O. P.; GRALAK, E. **Qualidade de grãos e produção de Fumonisina em híbridos de milho Inoculados Com *Fusarium verticillioides* em diferentes sistemas de manejo**. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo.

MENEGAZZO, R. Micotoxinas em milho para rações na região sul do Brasil (1992 a 1997). **Atualidades em micotoxinas e armazenagem de grãos**. Florianópolis: Ed. da Autora, p. 97-103, 2000.

MUNKVOLD, G. P.; MCGEE, D. C.; CARLTON, W. M. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. **Phytopathology**, v. 87, n. 2, p. 209-217, 1997.

MUNKVOLD, Gary P.; DESJARDINS, Anne E. Fumonisin in maize: can we reduce their occurrence?. **Plant disease**, v. 81, n. 6, p. 556-565, 1997.

ONO, Elisabete Yurie Sataque et al. Fusarium verticillioides strains isolated from corn feed: characterization by fumonisin production and RAPD fingerprinting. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 953-960, 2010.

OREN, Liat et al. Early events in the Fusarium verticillioides-maize interaction characterized by using a green fluorescent protein-expressing transgenic isolate. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 3, p. 1695-1701, 2003.

PAES, Maria Cristina Dias. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PERALTA, Ariane L. et al. Crop rotational diversity increases disease suppressive capacity of soil microbiomes. **Ecosphere**, v. 9, n. 5, p. e02235, 2018.

PEREIRA FILHO, Israel Alexandre; CRUZ, J. C.. **Efeitos da rotação de culturas e de métodos de preparo de solo na produção de milho e soja**. Sete Lagoas: EMBRAPA - Milho e Sorgo, 1994

PINTO, F. A. M. F. **Stenocarpella spp. inoculum quantification in tropical maize stubble**. 2016. 96 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

POSTMA, Joeke et al. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2394-2406, 2008.

RAAIJMAKERS, Jos M. et al. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant and soil**, v. 321, n. 1-2, p. 341-361, 2009.

REICHARDT, Klaus. **A água em sistemas agrícolas**. São Paulo: Manole, 1990.

REIS, Erlei Melo et al. Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. **Summa phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 65-67, 2011.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Sobrevivência de fitopatógenos. In: Vale, F. X. R.; Cintra de Jesus, V.; Zambolim, L. (Org.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. v.1, p. 335-364.

REYNOLDS, Heather L. et al. Grassroots ecology: plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. **Ecology**, v. 84, n. 9, p. 2281-2291, 2003.

SILVA, D. F. Biocombustíveis e produção animal impulsionarão a cultura. **Agrianual, São Paulo**, p. 373-374, 2004.

SIQUEIRA, C. da S. **Transmissão e desempenho de sementes de milho portadoras do complexo *Stenocarpella* sob condições controladas** / Carolina da Silva Siqueira. – Lavras: UFLA, 2013. 131 p.: il.

SMITH, T. K.; SEDDON, I. R. Synergism demonstrated between Fusarium mycotoxins. **Feedstuffs (USA)**, 1998.

STUMPF, Raquel et al. Fusarium species and fumonisins associated with maize kernels produced in Rio Grande do Sul State for the 2008/09 and 2009/10 growing seasons. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 89-95, 2013.

TRENTO, SIMONE M.; IRGANG, HELBER H.; REIS, ERLEI M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 06, p. 609-613, 2002.

TOMAZ, Paulo Roberto Xavier; DOS SANTOS, Juliana da Rocha; DE LIMA SANTOS, Paulo Caleb Júnior. Aspectos da aplicabilidade da análise da curva de melting. **RBAC**, v. 48, n. 1, p. 19-23, 2016

TOMAZELA, André Luis. **Adubação nitrogenada e de micronutrientes na produtividade e incidência de doenças foliares em milho**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VAN DER PUTTEN, Wim H. et al. Where, when and how plant–soil feedback matters in a changing world. **Functional Ecology**, v. 30, n. 7, p. 1109-1121, 2016.

WAALWIJK, C. et al. Quantitative detection of Fusarium spp. and its correlation with fumonisin content in maize from South African subsistence farmers. **World Mycotoxin Journal**, v. 1, n. 1, p. 39-47, 2008.

WELLER, David M. et al. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. **Annual review of phytopathology**, v. 40, n. 1, p. 309-348, 2002.

WORDELL FILHO, João Américo; ELIAS, Haroldo Tavares. A cultura do milho em Santa Catarina. Epagri, 2010.

ZAMBOLIM, L.; CASA, R. T.; REIS, E. M. Sistema plantio direto e doenças em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 585-595, 2000.

APÊNDICE A - TABELA 2

Tabela 2 - Resumo da análise de variância dos dados de produtividade de milho.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	3	163574,5352 ^{n.s.}
Bloco	3	248660,6430 ^{n.s.}
Resíduo	9	139875,1236
Total	15	
C.V. (%)	6,19	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo

APÊNDICE B - TABELA 3

Tabela 3 - Resumo da análise de variância dos dados de peso de mil sementes de milho.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	3	317,6643 ^{n.s.}
Bloco	3	104,5722 ^{n.s.}
Resíduo	9	437,0340 ^{n.s.}
Total	15	
C.V. (%)	6,02	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo

APÊNDICE C- TABELA 4

Tabela 4 - Resumo da análise de variância dos dados de porcentagem de grãos ardidos de milho

Fontes de variação	G.L.	Quadrado médio
Tratamento	3	406,9167*
Bloco	3	3,5833 ^{n.s.}
Resíduo	57	18,4605
Total	63	
C.V. (%)	29,5	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo

APÊNDICE D - TABELA 5

Tabela 5 - Resumo da análise de variância da incidência de *Fusarium verticillioides* obtidos pelo método do papel filtro "Blotter Test".

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	3	0,1800 ^{n.s.}
Bloco	3	0,0917 ^{n.s.}
Resíduo	9	0,0806
Total	15	
C.V. (%)	8,87	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo

APÊNDICE E - TABELA 6

Tabela 6 - Resumo da análise de variância da concentração DNA inicial safra 2016/2017.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	5	0,0000*
Resíduo	18	0,0000
Total	23	
C.V. (%)	47,73	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

n.s. Não significativo

APÊNDICE F- TABELA 7

Tabela 7 - Resumo da análise de variância da concentração de DNA final safra 2016/2017 e inicial safra 2017/2018.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	4	0,0007*
Tempo	1	0,0020*
Tratamento*Tempo	4	0,0004*
Resíduo	30	0,0000
Total	39	
C.V. (%)	55,72	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

n.s. Não significativo

APÊNDICE G - TABELA 8

Tabela 8 - Resumo da análise de variância da concentração de DNA inicial e final da safra 2017/2018.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	4	0,0012*
Tempo	1	0,0013*
Tratamento*Tempo	4	0,0002*
Resíduo	30	0,0000
Total	39	
C.V. (%)	55,85	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

n.s. Não significativo

APÊNDICE H - TABELA 9

Tabela 9 - Resumo da análise de variância da concentração DNA final safra 2017/2018.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	4	0,0004*
Resíduo	15	0,0000
Total	19	
C.V. (%)	76,26	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

n.s. Não significativo

APÊNDICE I - TABELA 10

Tabela 10 - Resumo da análise de variância da supressividade do solo safra 2016/2017

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	6	3816,8124*
Bloco	3	162,7794 ^{n.s.}
Resíduo	18	117,4279
Total	27	
C.V. (%)	21,45	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo

APÊNDICE J - TABELA 11

Tabela 11 - Resumo da análise de variância da supressividade do solo safra 2017/2018

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	6	4351,3120*
Bloco	3	87,4636 ^{n.s.}
Resíduo	18	127,1461
Total	27	
C.V. (%)	18,12	

*Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^{n.s.} Não significativo