

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL**

**CARACTERIZAÇÃO E MANEJO DO PATOSSISTEMA  
ERVA-MATE / PODRIDÃO-DE-RAÍZES**

**TESE DE DOUTORADO**

**IGOR POLETTO**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

# **CARACTERIZAÇÃO E MANEJO DO PATOSSISTEMA ERVA-MATE / PODRIDÃO-DE-RAÍZES**

**por**

**Igor Poletto**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Área de Concentração em Silvicultura, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Engenharia Florestal.**

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ**

Santa Maria, RS, Brasil

2010

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal**

A comissão examinadora, abaixo assinada,  
aprova a tese de doutorado

**CARACTERIZAÇÃO E MANEJO DO PATOSSISTEMA  
ERVA-MATE / PODRIDÃO-DE-RAÍZES**

elaborada por  
**Igor Poletto**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Doutor em Engenharia Florestal**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Marlove Fátima Brião Muniz, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)

---

**Lia Rejane Silveira Reiniger, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

---

**Álvaro Figueredo dos Santos, Dr. (EMBRAPA FLORESTAS)**

---

**Josiane Pacheco Menezes, Dr<sup>a</sup>. (CTISM-UFSM)**

---

**Carolina Cardoso Deuner, Dr<sup>a</sup>. (UPF)**

Santa Maria, 02 de agosto de 2010.

*A meus pais Ivonir e Maria, a meu irmão Tales, que sempre incentivaram e apoiaram meus estudos. Vocês são minha inspiração de vida.*

*Dedico este trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

*À Universidade Federal de Santa Maria através do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, pela oportunidade de realização do doutorado e ao órgão financiador CAPES, pelo apoio financeiro com a concessão da bolsa de doutorado.*

*À Profa. Dra. Marlove Fátima Brião Muniz, pela orientação, amizade e apoio prestado para a realização deste trabalho. Professora, meu especial agradecimento.*

*Aos professores Dr. Solon Jonas Longhi e Dra. Maristela Machado Araújo, pela Co-Orientação deste trabalho.*

*À banca examinadora, Profa. Dra. Lia Rejane Silveira Reiniger, Dr. Álvaro Figueredo dos Santos, Profa. Dra. Josiane Pacheco Menezes, Profa. Dra. Carolina Cardoso Deuner, pelas contribuições prestadas a este trabalho.*

*Meu agradecimento especial a meus pais Ivonir e Maria e ao meu irmão Tales que sempre me incentivaram e estão sempre ao meu lado me apoiando.*

*À Denise Ester Ceconi, pela amizade e ajuda prestada à realização deste trabalho.*

*Aos amigos do Laboratório de Fitopatologia, pela ótima e alegre convivência, além da amizade, apoio, compreensão e ajuda. Em especial a Tec. Adm. Maria N. D. Weber, além do já citado, pelas rodas de chimarrão e paciência com todos do laboratório.*

*Aos amigos e colegas Ricardo Mezzomo e Caciara Gonzatto Maciel, pela grande ajuda prestada.*

*À secretária do PPGEF, Cerlene Machado (Tita), pela paciência e grande ajuda prestada.*

*Ao Engenheiro Florestal Jorge Farias, pela parceria na realização deste trabalho.*

*Aos professores, funcionários e colegas do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria, pelas amizades, ensinamentos, apoio e convivência.*

*Ao Chefe do escritório municipal da Emater-RS-Ascar de Ilópolis, Jurandir José Marques, pela parceria e grande apoio prestado á realização deste trabalho.*

*A todas aquelas pessoas que, mesmo não mencionadas, de uma forma ou outra, contribuíram para a realização deste trabalho. Agradeço!*

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal  
Universidade Federal de Santa Maria

### CARACTERIZAÇÃO E MANEJO DO PATOSSISTEMA ERVA-MATE / PODRIDÃO-DE-RAÍZES

AUTOR: IGOR POLETTO

ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 02 de agosto de 2010.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) é uma espécie amplamente cultivada no sul do Brasil e países vizinhos, cujas folhas e galhos finos, preparados segundo método apropriado, fornecem o “mate” ou chimarrão, o mais popular chá consumido no Brasil e exportado para todo o mundo. A podridão-de-raízes é a principal doença da espécie no Brasil, podendo atacar plântulas e mudas no viveiro, bem como, árvores adultas em ervais. A doença é causada por *Fusarium* spp., além de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. e provoca sérios danos decorrentes da destruição do sistema radicular, ocasionando, nos casos mais graves, morte da planta. Suspeita-se que a incidência e a severidade da doença são influenciadas pelos métodos de cultivo e por práticas de manejo do erval, como aplicação de adubos minerais sem critérios técnicos ou ausência de adubação, calagem do solo e cultivo de ervais a pleno sol. Para verificar tal hipótese, foram demarcadas 25 propriedades rurais, em diferentes municípios da região do Vale do Taquari-RS, as quais possuíam ervais com sintomas da doença, e outras com ervais sadios. Nesses ervais, foram coletadas informações a respeito das características de cultivo e manejo, assim como, solo para análise química e biológica. Estas informações foram correlacionadas entre si através da correlação de Pearson e desdobradas em efeitos diretos e indiretos através da Análise de Trilha. Nos viveiros, suspeita-se que a incidência da doença está correlacionada à contaminação das sementes utilizadas e que, patógenos transmitidos por sementes, além de causar mortalidade de mudas, podem ser transmitidos a mudas sadias e, estas, serem transportadas para o campo, contaminando áreas livres do patógeno. Além disso, algumas práticas utilizadas pelos viveiristas podem ocasionar aumento da incidência de patógenos nas sementes e mudas. Para verificar tal hipótese, foram demarcados viveiros na região do Vale do Taquari-RS, onde foram coletadas amostras de sementes, de plântulas, de mudas e de substrato para analisar o potencial de inóculo de patógenos presente em cada tipo de amostra. A partir das análises do substrato, das sementes e das mudas, diferentes colônias de fungos do gênero *Fusarium* foram isoladas, purificadas e armazenadas, para testes de patogenicidade e, *Trichoderma*, para seleção de isolados com potencial antagonista ao *Fusarium*. Além disso, foram instalados experimentos, em dois viveiros, a fim de testar a eficiência dos produtos comerciais, químico (Captan SC<sup>®</sup>) e biológico (Agrotrich<sup>®</sup> e Trichodel<sup>®</sup>), no tratamento de sementes, visando o controle da incidência da doença nas sementeiras. Nos ervais, entre as variáveis estudadas, verificou-se que a matéria orgânica é a que mais influencia na população de *Fusarium* do solo, obtendo-se uma correlação linear positiva. Além desta variável, os teores de cálcio e de fósforo no solo também exercem certa influência na população de *Fusarium*, mas de forma menos significativa. Nos viveiros, constatou-se alta porcentagem de sementes contaminadas por *Fusarium* e *Rhizoctonia* e que, a contaminação começa já na fase de flores e frutos. Observou-se também, que a técnica de beneficiamento e estratificação das sementes, utilizada atualmente pelos viveiristas, contribui para o aumento da incidência de patógenos. Além das sementes, observou-se que plântulas e mudas no final do ciclo de viveiro, apresentam contaminação por patógenos nas suas raízes, mesmo que não apresentassem sintomas de podridão-de-raízes. Os produtos Captan SC<sup>®</sup>, Agrotrich<sup>®</sup> e Trichodel<sup>®</sup> utilizados no tratamento das sementes, previamente à semeadura, não foram eficientes no controle de *Fusarium* e *Rhizoctonia*. Na seleção de *Trichoderma* spp. com potencial antagonista ao *Fusarium* observou-se que o isolado SP-SFE-T1 apresentou alto potencial antagonístico em testes “*in vitro*”.

**Palavras-chave:** *Fusarium* spp.; *Trichoderma* spp., manejo integrado de doenças.

## ABSTRACT

Doctorate Thesis

Pos-Graduation Program in Forest Engineering  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### CHARACTERIZATION AND MANAGEMENT OF THE PATHOSYSTEM

#### ERVA-MATE / ROOT-ROT

AUTHOR: IGOR POLETTTO

ADVISOR: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

Place and Date: Santa Maria, August 02<sup>th</sup>, 2010

Erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) is a species widely cultivated in southern Brazil and adjacent countries, whose leaves and fine branches, appropriately prepared, offer the mate-tea, the most popular tea consumed in Brazil and exported to all over the world. Root-rot is the main disease of this species in Brazil and may attack plantules and seedlings in nurseries as well as adult trees in orchards. The disease is caused by *Fusarium* spp., besides *Pythium* sp. and *Rhizoctonia* sp. causing serious damages due to the root system destruction, it causes, in the most serious cases the death of the plant. The incidence and the severity of the disease might be influenced by the cultivation methods and management of the orchard, with the use of mineral fertilizers without any technical criteria or the absence of fertilization, soil liming and orchards cultivation under the sun. In order to verify such hypothesis, 25 rural estates were marked in different counties of Vale do Taquari area in the state of Rio Grande do Sul – BR. These areas had some orchards with symptoms of the disease and others in healthy conditions. Information about the crop and management characteristics, as well as soil for chemical and biological analysis, were collected and correlated through Pearson and outspread in direct and indirect effects through Path Analysis. In the nurseries, the disease incidence might be correlated to the contamination of the seed and the transmitted pathogens besides causing the death of the seedling may also have been transmitted to health seedlings, and they might had been transported to the field, contaminated areas which were previously free from the pathogen. Some practices applied by the farmers may cause the increase in the incidence of pathogens in the seeds and seedlings. In order to verify such hypothesis, some nurseries have been selected in the area of Vale do Taquari–RS, where some samples of seeds, plantules, seedlings and substrata were collected in order to analyze the inoculation potential of the pathogens in each sort of sample. From the analysis of the substrata, seeds, seedlings different fungi colonies of the genre *Fusarium* were isolated, purified and stored for pathogenicity tests and, *Trichoderma*, for isolated selection with potential *Fusarium* antagonist. Moreover, experiments were installed in 2 nurseries, aiming at testing the benefits of commercial chemical (Captan SC<sup>®</sup>) and biological (Agrotrich<sup>®</sup> e Trichodel<sup>®</sup>) products, in the seed treatment, aiming at controlling the incidence of the disease on the seedbed. In the orchards, among the studied variables, it was noticed that the organic matter is the most influential over the *Fusarium* population in the soil and a linear positive correlation was obtained. Besides this variable, the calcium and phosphorus contends also have some sort of influence over the *Fusarium* population, however, in a less significant way. In the nurseries, the high percentage of seeds contaminated by *Fusarium* and *Rhizoctonia* was noticed. It was also noticed that the contamination begins in the flower and fruit phase. It was also observed that the technique of seed processing and stratification applied by the farmers, contribute to the increase in the incidence of pathogens. Besides the seeds, it was also noticed that the plantules and seedlings at the end of the nursery cycle, present pathogen contamination in their roots, although they did not present root-rot symptoms. The products Captan SC<sup>®</sup>, Agrotrich<sup>®</sup> and Trichodel<sup>®</sup> applied on the seed treatment, before the sowing, were not efficient in the *Fusarium* and *Rhizoctonia* control. In the *Trichoderma* spp. selection as potential antagonist to *Fusarium*, it was observed that SP-SFE-T1 isolated present high antagonistic potential in “*in vitro*” tests.

**Key-words:** *Fusarium* spp.; *Trichoderma* spp.; integrated disease management.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Representação da população do patógeno interagindo com a população do hospedeiro, sob a influência do ambiente e a interferência humana. Desta interação resultará a população de lesões (doença), representada pela superfície do tetraedro. Adaptado de Bergamin Filho (1995)..... 20
- Figura 2** - Gabarito com a escala utilizada para atribuição das notas no teste de pareamento de culturas. Fonte: Rodrigues (2010)..... 40
- Figura 3:** Gráficos das principais características dos ervaís. A = Tipo de adubação; B = Idade dos ervaís (anos); C = Intensidade da poda; D = Severidade da podridão-de-raízes conforme a equação do item 3.1.3..... 46
- Figura 4** - Porcentagem de flores contaminadas com fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia*. As indicações CG, SB, JD, CG e IP referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos ervaís e as letras após o hífen referem-se à condição do erval: sadio (S) ou doente (D)..... 59
- Figura 5** - Porcentagem de frutos contaminados com fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia*. As indicações IP, CG, NS, AP, SB, e JD referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos ervaís e as letras após o hífen referem-se à condição do erval: sadio (S) ou doente (D)..... 61
- Figura 6** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* em sementes despulpadas em laboratório. As indicações CG, IP, NS, AP, JD, CG e SB referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos ervaís e as letras após o hífen referem-se à condição do erval: sadio (S) ou doente (D)..... 62
- Figura 7** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* em sementes despulpadas pelos viveiristas e coletadas antes de serem colocadas para estratificação. As indicações AR, AF, DC, AC e ND referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros..... 63



|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 8</b> - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero <i>Fusarium</i> e <i>Rhizoctonia</i> em sementes coletadas durante o período de estratificação. As indicações SP, AR, AF, MG, AC, LR, ND, e DC referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.....   | 65 |
| <b>Figura 9</b> - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero <i>Fusarium</i> e <i>Rhizoctonia</i> em sementes coletadas na sementeira e em semeadura direta. As indicações MG, AM, AR, SP, AF e DC referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros e as letras após o hífen referem-se às sementes em semeadura direta (MPD) ou em semeadura na sementeira (SS).....                   | 66 |
| <b>Figura 10</b> - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> e <i>Trichoderma</i> em plântulas sob semeadura direta e em sementeira. As indicações ND, DC, MG, AM, AC, SP, e AR referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros e as letras após o hífen referem-se à plântula em semeadura direta (MPD) ou em semeadura na sementeira (MS)..... | 67 |
| <b>Figura 11</b> - Análise de mudas de erva-mate no final do ciclo de viveiro. (A) Porcentagem de mudas que apresentaram sintomas de podridão-de-raízes. (B) Porcentagem de mudas que apresentaram contaminação por fungos do gênero <i>Fusarium</i> e <i>Rhizoctonia</i> . As indicações ND, DC, AF, SP, e MG referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.....                          | 68 |
| <b>Figura 12</b> - Número de UFCs mg <sup>-1</sup> de substrato de <i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> e <i>Trichoderma</i> . (A) Substrato coletado antes de ser utilizado. (B) Substrato coletado nos recipientes de mudas ao final do ciclo de viveiro. As indicações AC, MG, SP, AR, AM, DC, e AF referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.....                                  | 69 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> - Escala utilizada para o teste de pareamento de culturas.....  | 39 |
| <b>Tabela 2</b> – Valores médios, mínimos e máximos e coeficientes de variação (CV) para as variáveis (população de fungos do solo) amostradas nas propriedades. ....   | 47 |
| <b>Tabela 3</b> – Valores médios, mínimos e máximos e coeficientes de variação (CV) para as variáveis (características químicas do solo) amostradas nas propriedades. ....  | 48 |
| <b>Tabela 4</b> - Estimativas das correlações de Pearson entre a população de <i>Fusarium</i> em UFC mg <sup>-1</sup> de substrato ( <b>Fus</b> ) e características de manejo e cultivo dos ervais: <b>ID</b> = idade do erval e <b>TA</b> = tipo de adubação.....  | 48 |
| <b>Tabela 5</b> - Estimativas das correlações de Pearson entre a população de <i>Fusarium</i> em UFC mg <sup>-1</sup> de substrato ( <b>Fus</b> ) e características biológicas do solo: <b>Tri</b> = população de <i>Trichoderma</i> , <b>Tot</b> = população de todos os fungos presentes (UFC mg <sup>-1</sup> de substrato); <b>NºG</b> = número de gêneros fúngicos presentes.....  | 49 |
| <b>Tabela 6</b> - Estimativas das correlações de Pearson entre a população de <i>Fusarium</i> em UFC mg <sup>-1</sup> de substrato ( <b>Fus</b> ) e características químicas do solo: <b>pH</b> = potencial de hidrogênio; <b>P</b> = Fósforo; <b>K</b> = Potássio; <b>MO</b> = matéria orgânica; <b>Ca</b> = Cálcio; <b>Mg</b> = Magnésio; e <b>V</b> = Saturação por bases.....   | 49 |
| <b>Tabela 7</b> - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson e respectivas estimativas dos efeitos diretos e indiretos de <b>Tri</b> = população de <i>Trichoderma</i> , <b>Tot</b> = população de todos os fungos presentes (UFC mg <sup>-1</sup> de substrato) e <b>NºG</b> = número de gêneros fúngicos presentes sobre a população de <i>Fusarium</i> em UFC mg <sup>-1</sup> de substrato ( <b>Fus</b> )..... | 50 |
| <b>Tabela 8</b> - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson e respectivas estimativas dos efeitos diretos e indiretos do <b>pH</b> = potencial de hidrogênio; <b>P</b> = Fósforo; <b>K</b> = Potássio; <b>MO</b> = matéria orgânica; <b>Ca</b> = Cálcio; <b>Mg</b> = magnésio; <b>V</b> = Saturação por bases sobre a população de <i>Fusarium</i> em UFC mg <sup>-1</sup> de substrato ( <b>Fus</b> )...         | 52 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 9</b> – Análise química do solo utilizado como substrato em viveiros de produção de mudas de erva-mate.....   | 56 |
| <b>Tabela 10</b> – Análise da variância entre os diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp.....   | 70 |
| <b>Tabela 11</b> – Comparação de médias das notas atribuídas à ação dos diferentes isolados de <i>Trichoderma</i> spp. de acordo com o modelo de Bell et al. (1982) adaptado de Rodrigues (2010).....   | 72 |
| <b>Tabela 12</b> – Análise química do solo utilizado nos experimentos SP e AR.....  | 73 |
| <b>Tabela 13</b> – Análise da variância para as variáveis: população de <i>Fusarium</i> ( <b>Fus</b> ), <i>Rhizoctonia</i> ( <b>Rhi</b> ), <i>Trichoderma</i> ( <b>Tri</b> ) e total de fungos presentes ( <b>Tot</b> ), em dois experimentos.....  | 75 |
| <b>Tabela 14</b> – Comparação entre médias dos tratamentos para as variáveis população de <i>Fusarium</i> ( <b>Fus</b> ), <i>Rhizoctonia</i> ( <b>Rhi</b> ), <i>Trichoderma</i> ( <b>Tri</b> ) e total de fungos presentes ( <b>Tot</b> ) (UFCs mg <sup>-1</sup> de substrato), em dois experimentos..... | 76 |
| <b>Tabela 15</b> – Análise da variância para as variáveis: porcentagem de plântulas contaminadas com <i>Fusarium</i> ( <b>Fus</b> ), <i>Rhizoctonia</i> ( <b>Rhi</b> ) e <i>Trichoderma</i> ( <b>Tri</b> ), em dois experimentos.....   | 77 |
| <b>Tabela 16</b> – Comparação entre médias dos tratamentos para as variáveis: porcentagem (%) de plântulas contaminadas com <i>Fusarium</i> ( <b>Fus</b> ), <i>Rhizoctonia</i> ( <b>Rhi</b> ) e <i>Trichoderma</i> ( <b>Tri</b> ), em dois experimentos.....  | 78 |

## LISTA DE APÊNDICES

|  |     |
|--|-----|
| <b>Apêndice 1</b> – Ficha de identificação e coleta de dados aplicada aos proprietários de ervais.....   | 95  |
| <b>Apêndice 2</b> – Representação do erval com sintomas de podridão-de-raízes em reboleira e metodologia de avaliação.....   | 96  |
| <b>Apêndice 3</b> – Descrição dos produtos comerciais utilizados nos experimentos descritos no item 3.4.....   | 96  |
| <b>Apêndice 4</b> – Croqui do experimento e disposição dos tratamentos na sementeira após o sorteio.....   | 98  |
| <b>Apêndice 5</b> – Detalhes da instalação da sementeira (experimento do viveiro SP).....  | 98  |
| <b>Apêndice 6</b> – A = Flores de erva-mate em câmara úmida. B = detalhe da flor com crescimento de <i>Fusarium</i> .....  | 99  |
| <b>Apêndice 7</b> – A = Frutos de erva-mate em câmara úmida. B = detalhe do fruto com crescimento de <i>Fusarium</i> .....   | 99  |
| <b>Apêndice 8</b> – A = Sementes de erva-mate em câmara úmida. B = detalhe da semente com crescimento de <i>Fusarium</i> (f) e <i>Rhizoctonia</i> (r).....   | 99  |
| <b>Apêndice 9</b> – A = plântulas de erva-mate com podridão-de-raízes. B = detalhe do sistema radicular atacado.....   | 100 |
| <b>Apêndice 10</b> – Plântulas colocadas em placas de Petri com BDA. f = <i>Fusarium</i> ; e r = <i>Rhizoctonia</i> .....  | 100 |
| <b>Apêndice 11</b> – A = detalhe da raiz de muda de erva-mate com sintoma podridão-de-raízes. B = desenvolvimento de <i>Fusarium</i> a partir dos tecidos internos da raiz.....                      | 100 |
| <b>Apêndice 12</b> – Plântulas colocadas em placas de Petri com BDA. A = plântulas coletadas em cada tratamento do experimento SP. B = plântulas coletadas em cada tratamento do experimento AR..... | 101 |
| <b>Apêndice 13</b> – Detalhe da sementeira (viveiro AR) e da emergência das plântulas.....   | 101 |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>  | <b>15</b> |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>   | <b>17</b> |
| <b>2.1 Características da espécie e de cultivo.....</b>   | <b>17</b> |
| <b>2.2 A podridão-de-raízes e a erva-mate.....</b>  | <b>18</b> |
| <b>2.3 Epidemiologia e manejo integrado de doenças.....</b>                                       | <b>19</b> |
| <b>2.4 Fatores relacionados ao manejo da podridão-de-raízes da erva-mate.....</b>                 | <b>21</b> |
| 2.4.1 Nutrição.....   | 21        |
| 2.4.2 <i>Trichoderma</i> spp. como controlador biológico.....                                     | 23        |
| 2.4.3 O ambiente como precursor de suscetibilidade de plantas a doenças.....                      | 25        |
| 2.4.4 Patógenos em sementes e mudas.....  | 26        |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>  | <b>31</b> |
| <b>3.1 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em ervais.....</b>             | <b>31</b> |
| 3.1.1 Local de estudo e escolha das propriedades.....   | 31        |
| 3.1.2 Levantamento de informações nas propriedades amostradas.....                                | 32        |
| 3.1.3 Quantificação da incidência e severidade da podridão-de-raízes.....                         | 32        |
| 3.1.4 Coleta de solo e análises laboratoriais.....  | 33        |
| 3.1.5 Procedimento estatístico.....   | 34        |
| <b>3.2 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em viveiros.....</b>           | <b>35</b> |
| 3.2.1 Demarcação dos viveiros para estudo.....  | 35        |
| 3.2.2 Coleta de amostras e análises laboratoriais.....  | 35        |
| 3.2.3 Testes de patogenicidade.....   | 38        |
| <b>3.3 Seleção de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. antagonistas à <i>Fusarium</i> spp.....</b> | <b>38</b> |
| <b>3.4 Controle da podridão-de-raízes e do “damping-off” em plântulas na sementeira.....</b>      | <b>40</b> |
| 3.4.1 Localização e composição dos experimentos.....  | 40        |
| 3.4.2 Instalação dos experimentos.....  | 41        |
| 3.4.3 Coleta de material e análises laboratoriais.....  | 42        |
| 3.4.4 Avaliação do crescimento e sanidade das plântulas.....                                      | 43        |
| 3.4.5 Procedimento estatístico.....   | 43        |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>   | <b>44</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4.1 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em ervais.....</b>  | <b>44</b> |
| 4.1.1 Localização e características das propriedades amostradas.....   | 44        |
| 4.1.2 Severidade da doença.....  | 45        |
| 4.1.3 Relação de causa e efeito das características de manejo e cultivo dos ervais, características químicas e população de fungos do solo sobre a população de <i>Fusarium</i> do solo..... | 46        |
| <b>4.2 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em viveiros.....</b>  | <b>54</b> |
| 4.2.1 Características gerais dos viveiros.....   | 55        |
| 4.2.2 Características químicas do substrato utilizado nos viveiros.....  | 56        |
| 4.2.3 Incidência de patógenos em flores, frutos, sementes, mudas e substrato.....  | 58        |
| 4.2.4 Testes de patogenicidade.....  | 70        |
| <b>4.3 Seleção de isolados de <i>Trichoderma</i> spp. antagonistas à <i>Fusarium</i> spp.....</b>  | <b>70</b> |
| <b>4.4 Controle da mortalidade de plântulas em sementeira.....</b>   | <b>73</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES.....</b>   | <b>81</b> |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>   | <b>82</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>   | <b>83</b> |
| <b>APÊNDICES.....</b>  | <b>94</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) compõe um dos sistemas agroflorestais mais antigos e característicos da Região Sul do Brasil, assumindo expressiva importância ambiental e socioeconômica, constituindo-se numa das principais fontes de renda e de emprego em todos os segmentos da cadeia produtiva, especialmente para os pequenos e médios produtores.

Segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), em 2008 o Brasil produziu 28.981.800 arrobas de erva-mate (matéria prima), oriundas de lavouras permanentes, sendo 59% produzidas no estado do Rio Grande do Sul, 30,5% no Paraná, 9,6% em Santa Catarina e 0,9% em Mato Grosso do Sul, perfazendo um total de 86.996 hectares cultivados.

Dados fornecidos pelo escritório municipal da Associação Rio-Grandense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER-RS) de Ilópolis, na pessoa do Sr. Jurandir José Marques, mostram que a região produtora de Erva-mate, conhecida por região alta do Vale do Taquari-RS e municípios próximos, compreendida por Arvorezinha, Ilópolis, Anta Gorda, Fontoura Xavier, Itapuca, São José do Erval e Doutor Ricardo possuem juntos 21.920 ha de Erva-mate plantada, com uma produção anual superior a 10.000.000 de arrobas (safra 2008), industrializadas em 29 agroindústrias. Comparando esses dados com os divulgados pelo IBGE, esse montante corresponde, aproximadamente, a 58 % da produção do Rio Grande do Sul.

Com o aumento da área de cultivo de ervais e viveiros produtores de mudas, especialmente nos últimos quinze anos, os problemas fitossanitários se intensificaram, tanto no campo como nos viveiros. A podridão-de-raízes é apontada como a principal causa de prejuízos pelos produtores, no entanto, há ainda uma carência de informações sobre sua epidemiologia, o que dificulta a adoção de metodologias de manejo. Em plantios em campo, a doença ataca plantas de todas as idades, destruindo inicialmente, o sistema radicular e vasos condutores de seiva do xilema. Logo após a infecção pode-se observar os sintomas na parte aérea da planta, que começam com amarelecimento e queda das folhas, evoluindo para a morte da mesma. A evolução da doença dentro do erval ocorre em reboleiras podendo atingir grandes áreas e, anualmente, constata-se dezenas de novas áreas com plantas sintomáticas. Em viveiros, ocorre “damping off” de pré e pós emergência e podridão-de-raízes, causando

grandes perdas, as vezes, chegando a morte total das mudas do viveiro (POLETTTO et al., 2005; POLETTTO et al., 2006a; POLETTTO et al., 2007).

Por serem de cultura familiar, os ervais, geralmente, são cultivados em pequenas áreas, porém numerosas, com grande variabilidade no que se refere às características de manejo e cultivo como: cultivo homogêneo ou consorciado com as mais diversas culturas agrícolas e florestais, tipos de adubação e quantidade, épocas e intensidades de poda, controle de inço (plantas daninhas), tipos de solo, etc. A mesma é observada nos viveiros, onde há uma diversidade enorme de tipos e qualidades de substrato, locais de obtenção de sementes, bem como, sua localização, em locais mais úmidos ou drenados, mais sombreados ou ensolarados. Assim, essa diversidade de características dificulta o entendimento do patossistema e dos fatores que predispõem ao surgimento das doenças.

A quantidade do inóculo do patógeno, sua severidade, número de espécies envolvidas, concentração e suscetibilidade do hospedeiro, nutrição, umidade, temperatura, técnicas de manejo e cultivo, população de microrganismos, entre outros, representam fatores que influenciam no comportamento da doença e, o conhecimento de qual ou quais desses fatores estão envolvidos, direta ou indiretamente, de forma isolada ou conjunta, nos dá a possibilidade de adoção de técnicas que visem, em última instância, desfavorecer a população de patógenos e favorecer o desenvolvimento do hospedeiro (FRY, 1982; KIMATI e BERGAMIN FILHO, 1995; AGRIOS, 2005).

Dessa forma, alguns estudos já foram realizados e outros estão em andamento, com o objetivo de conhecer melhor o comportamento da podridão-de-raízes. Em um experimento de viveiro, com mudas de erva-mate cultivadas sob diferentes dosagens de adubação, verificou-se que aquelas que receberam dosagens acima da recomendação ficaram suscetíveis ao *Fusarium* spp. (POLETTTO, 2008). Outro experimento, conduzido pelo mesmo autor, mostrou que mudas produzidas sob pleno sol ou com menores níveis de sombreamento (26% e 41%), tornaram-se suscetíveis ao *Fusarium* spp., enquanto que as cultivadas mais sombreadas (85% e 95%), não apresentaram sintomas da doença.

Diante disso, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo geral de a) estudar a epidemiologia da podridão-de-raízes de erva-mate e como objetivos específicos, b) identificar as características do erval que estejam correlacionadas com a incidência e severidade da doença; c) identificar e quantificar as fontes de inóculo de patógenos presentes em viveiros produtores de mudas de erva-mate; d) verificar a patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. em erva-mate e) selecionar isolados de *Trichoderma* spp. com potencial antagonista ao



*Fusarium* spp.; e, f) testar diferentes tratamentos de sementes no controle de patógenos causadores de podridão-de-raízes e “damping-off” em sementeiras.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Características da espécie e de cultivo

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill) pertence à família Aquifoliaceae, é nativa da Região Sul do Brasil e também da Argentina e Paraguai, compreendendo, entre os três países, aproximadamente 540.000 km<sup>2</sup> de área natural (ANDRADE, 1999). Essa região se localiza entre as latitudes 22° S e 30° S e longitudes 48° 30' W e 56° 10' W, com altitudes que variam entre 500 e 1500 m sobre o nível do mar. No Brasil, corresponde a 450.000 km<sup>2</sup>, representando cerca de 5% do território nacional e 3% da América do Sul (ROTTA e OLIVEIRA, 2007).

No Brasil, a erva-mate habita, particularmente, em meio às matas de araucária (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze.) (LORENZI, 1998). É uma árvore de pequeno porte, de fuste curto e copa densa, perenifólia, de até 15 m de altura. As folhas são duras, alternas, oblongas, verde-escuras, glabras com até 8 cm de comprimento por até 4 cm de largura e com margens serrilhadas. As inflorescências são em feixes na axila das folhas e as flores masculinas e femininas, geralmente tetrâmeras, medem até 7 cm de diâmetro. O fruto é uma baga esférica, com quatro sementes, de tonalidade vermelha até negra, com 5,5 mm de diâmetro. A planta floresce durante os meses de outubro e dezembro e frutifica de janeiro a março, propagando-se naturalmente dentro da floresta. Para cultivos comerciais, as sementes são separadas dos frutos por meio de lavagem e, em seguida, permanecem estocadas em areia, num processo chamado de estratificação, para amadurecimento do embrião, e a germinação ocorre depois de 120 dias. A espécie é considerada uma importante frutífera para a avifauna (BACKES e IRGANG, 2002).

A madeira da erva-mate pode ser empregada para caixotaria e para lenha. Suas folhas preparadas segundo método apropriado, fornecem o “mate” ou chimarrão, o mais popular chá consumido no Brasil e exportado para todo o mundo (LORENZI, 1998).

Segundo Maccari Junior et al. (2006), é difícil traçar características gerais para os ervais e para os sistemas de produção, pela grande área ervateira e sua conseqüente diversidade nas práticas de cultivo, tanto dos ervais de ocorrência natural quanto os de plantio. Para Rotta e Oliveira (2007), a erva-mate é produzida por meio de vários sistemas de cultivo como: solteira, em consórcio com culturas anuais, com e sem mecanização no preparo

do solo, na mata ou em capoeiras e em áreas de pastagens. Conto (2000) classifica a estrutura da produção de erva-mate no sul do Brasil em dois grupos, ervais nativos e ervais cultivados, podendo ser explorados de forma extrativista, não-tecnificado ou tecnificado (ANDRADE, 1999).

## 2.2 A podridão-de-raízes da erva-mate

A podridão-de-raízes é a principal doença da erva-mate e foi constatada, inicialmente, por Grigoletti Junior e Auer (2001), no estado do Paraná, atacando plantas no campo. No Rio Grande do Sul, essa doença foi constatada, em ervais no ano de 2004, por Poletto et al. (2006a), atingindo alguns municípios na região do Vale do Taquari. Ao contrário da maioria dos patossistemas, esse possui várias espécies fúngicas que podem atuar de forma isolada ou conjunta. Os fungos *Fusarium oxysporum* Schlecht. e *F. solani* (Mart.) Sacc. são os frequentemente encontrados e mais virulentos, juntamente com *F. tricinctum* (Corda) Sacc., menos freqüente. Além destes, podem ocorrer *F. decemcellulare* Brick, *F. tabacinum* (Beyma) W. Gams, *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. Na maioria das vezes, a doença é observada em reboleiras de tamanho variável no meio do erval e, em alguns casos, erveiras mortas ou com sintomas aparecem espalhadas por todo erval. Os sintomas observados na parte aérea das plantas são amarelecimento ascendente das folhas, estagnação do crescimento e queda excessiva de folhas, morte parcial (de alguns galhos da planta) e, em casos mais avançados da doença, morte total da planta. O patógeno localiza-se no sistema radicular causando, inicialmente manchas necróticas na superfície das raízes e estrias escuras no xilema, evoluindo para necrose (POLETTTO et al., 2006a; POLETTTO et al., 2007).

No viveiro, essa doença é comumente observada juntamente com o “damping-off” ou tombamento-de-mudas, como é mais conhecido e, ambas são causadas pelos mesmos patógenos. O tombamento-de-mudas é mais observado em sementeiras e ocorre em reboleiras. As lesões, caracterizadas pela necrose dos tecidos, concentram-se na região do colo e, conseqüentemente a muda tomba. A podridão-de-raízes ocorre, geralmente, de forma esparsa na sementeira ou em mudas já nos recipientes. Os principais sintomas observados na parte aérea são o amarelecimento foliar, a estagnação do crescimento, a queima e seca de folhas que iniciam a partir da extremidade do limbo, a murcha e, por fim, a morte da muda. No sistema radicular ocorre redução de seu crescimento, escurecimento e necrose das raízes. Os

patógenos geralmente observados são dos gêneros *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. e *Pythium* sp. (GRIGOLETTI JUNIOR, et al., 1996; ANDRADE, 1999; POLETTTO et al., 2005). Em amostras de mudas sintomáticas coletadas em viveiros, foram isoladas quatro espécies de *Fusarium* associadas à podridão-de-raízes: *F. avenaceum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides* e *F. merismoides* (POLETTTO et al., 2005; POLETTTO et al., 2006b).

Além de árvores e mudas, algumas espécies de *Fusarium* também têm sido observadas contaminando sementes de erva-mate ou causando apodrecimento, como *Fusarium solani*, *F. verticillioides* e *F. oxysporum* (POLETTTO et al., 2006b).

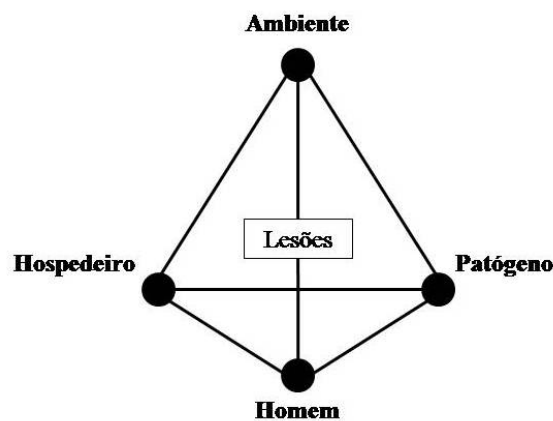
### **2.3 Epidemiologia e manejo integrado de doenças**

Quando uma planta adoece, na maioria dos casos, ela está sendo atacada por um organismo patogênico. Para que isso ocorra, é necessário o contato entre dois fatores, uma planta suscetível e um organismo capaz de extrair nutrientes da planta suscetível (hospedeiro). Durante o contato do patógeno com o hospedeiro e, durante algum tempo depois, as condições ambientais devem estar favoráveis, caso contrário, em alguma condição extrema, como frio ou calor intenso, excesso de umidade ou seca, pode prejudicar o desenvolvimento da doença. Assim, o ambiente influencia diretamente no estabelecimento do patógeno e no desenvolvimento da doença; tal interação é conhecida como triângulo das relações patógeno-hospedeiro-ambiente (AGRIOS, 2005).

Segundo Kranz (1974) citado por Bergamin Filho (2005), epidemiologia é “*o estudo de populações de patógenos em populações de hospedeiros e da doença resultante desta interação, sob a influência do ambiente e a interferência humana*”.

Assim, de acordo com Bergamin Filho (1995), as populações importantes, para a epidemiologia, são aquelas do hospedeiro, de um lado, e do patógeno, de outro. O contato destas duas populações leva a uma terceira, a população de lesões. O ambiente interfere no desenvolvimento das três populações, muitas vezes diferencialmente e, em contrapartida, as três populações também influenciam o ambiente, especialmente o microclima. Além disso, o homem, cada vez mais interage com todos os fatores envolvidos e, não raro, sofre os efeitos do rápido crescimento da população de lesões. A representação gráfica de todas estas interações pode ser visualizada na Figura 1.

O homem determina o tipo de plantas cultivadas em determinada área, seu grau de resistência, o tempo de cultivo, e a densidade de plantas. Pela resistência das cultivares, o homem determina quais patógenos e quais raças irão predominar. As suas práticas culturais – aplicação de substâncias químicas, controladores biológicos, etc. – podem afetar a quantidade de inóculo primário ou secundário disponível para atacar as plantas. Também podem modificar o ambiente da doença, adiantando ou retardando a época de plantio, realizando plantio diretamente na palha, regulando a umidade, principalmente em locais de armazenamento do produto, etc. (AGRIOS, 2005).



**Figura 1** - Representação da população do patógeno interagindo com a população do hospedeiro, sob a influência do ambiente e a interferência humana. Desta interação resultará a população de lesões (doença), representada pela superfície do tetraedro. Adaptado de Bergamin Filho (1995).

Agrios (2005) adiciona mais um componente interagindo no tetraedro patógeno-hospedeiro-ambiente-homem: o tempo. Um ponto específico no tempo, no qual um evento particular ocorre dentro do desenvolvimento da doença e, a duração do tempo durante o qual o evento acontece, afetam a quantidade da doença. O efeito do tempo fica mais aparente quando é considerada sua importância durante o ano, por exemplo: a duração e frequência da temperatura e chuvas favoráveis, o tempo de aparecimento do vetor, a duração do ciclo de infecção, entre outros.

O princípio básico da epidemiologia é o de que a quantidade da doença no campo é determinada pelo balanço entre dois processos opostos: infecção e remoção. De um lado novas infecções ocorrem, lesões aparecem, tornam-se infecciosas e, mais tarde, possibilitam o aparecimento de novas lesões. De outro lado, tecido infeccioso é removido quando as lesões envelhecem e não mais formam esporos. Quando a infecção for mais intensa do que a remoção, a intensidade da doença crescerá rapidamente. Quando a remoção for mais intensa

do que a infecção, a intensidade da doença deixará de aumentar e poderá até diminuir (BERGAMIN FILHO, 1995).

A quantificação da doença, designada pelo termo fitopatometria, é necessária tanto para o estudo de medidas de controle, na determinação da eficiência de um fungicida ou na caracterização da resistência vertical, como para a epidemiologia na construção de curvas de progresso da doença e estimativa dos danos provocados por ela. Os termos utilizados na fitopatometria são incidência, severidade e intensidade, e representam os parâmetros a serem medidos. A incidência é a porcentagem (frequência) de plantas doentes ou partes das plantas doentes em uma amostra ou população. Severidade é a porcentagem de área ou do volume de tecido coberto por sintomas. Intensidade é um termo mais amplo que pode ser expresso como incidência ou severidade (AMORIM, 1995).

Estudos epidemiológicos são essenciais para o manejo racional e a redução de perdas causadas por doenças de patógenos do sistema radicular. Porém, a quantificação das relações entre patógeno, hospedeiro e ambiente não é tarefa simples, pois as interações entre estes vértices do triângulo de doenças se desenvolvem num sistema de grande complexidade: o solo. Características abióticas e bióticas atuam de modo direto e indireto, em diferentes intensidades e de maneira previsível ou errática, sobre o desenvolvimento da doença. A biologia do patógeno do sistema radicular, por si só, já é complexa. Somam-se a esta complexidade, as limitações operacionais, isto é, em vista da opacidade do solo, é difícil realizar observações detalhadas e acuradas. Outro fator complicador é a presença de uma população estabelecida de microrganismos com sua própria biologia no solo, sem uma conexão com a planta hospedeira (MAFFIA e MIZUBUTI, 2005).

## **2.4 Fatores relacionados ao manejo da podridão-de-raízes da erva-mate**

### **2.4.1 Nutrição**

Os efeitos dos nutrientes minerais no crescimento e produção são usualmente estudados em termos de suas funções no metabolismo dos vegetais. Além disso, a nutrição mineral pode influenciar o crescimento e a produção das plantas cultivadas de forma secundária, causando modificações na forma do crescimento, na morfologia, na anatomia e

em sua composição química. Os nutrientes minerais podem também aumentar ou diminuir a resistência das plantas aos patógenos (COLHOUM, 1973 apud ZAMBOLIM e VENTURA, 1993). A resistência pode ser aumentada por modificações na anatomia (células da epiderme mais grossas, lignificadas, suberizadas e ou silificadas) e nas propriedades fisiológicas e bioquímicas (produção de substâncias inibidoras ou repelentes). A resistência pode, particularmente, ser aumentada pela alteração nas respostas das plantas aos ataques de parasitas, aumentando as barreiras mecânicas (lignificação) e a síntese de compostos tóxicos (MARSCHNER, 1995).

A medida mais importante no controle de doenças de plantas é o uso de variedades resistentes, que corresponde à habilidade do hospedeiro em limitar a penetração e o desenvolvimento do patógeno. A tolerância é a habilidade da planta em manter seu próprio crescimento (produtividade) a despeito da intensidade de doença que suporta. O escape é a falta de sincronia entre os estágios de crescimento das partes suscetíveis da planta com o período de maior atividade do patógeno (ZAMBOLIM et al., 2001).

Nesse contexto, os nutrientes minerais podem aumentar ou diminuir a resistência das plantas aos patógenos. Dentre os mecanismos de resistência, destacam-se: a) modificação na anatomia da planta como, por exemplo, da espessura das células da epiderme; b) modificação nas propriedades fisiológicas e bioquímicas da planta como, por exemplo, produção de substâncias inibitórias à infecção do patógeno, tais como as fitoalexinas, os precursores de lignina (compostos fenólicos), a biossíntese de suberina e a silificação (MARSCHNER, 1995; ZAMBOLIM et al., 2001).

Todos os elementos minerais essenciais são considerados importantes em relação à incidência ou severidade de doenças. O efeito dos nutrientes em doenças é determinado por: a) efeito da fertilização mineral na severidade da doença; b) comparação das concentrações de elementos nos tecidos de cultivares resistentes e suscetíveis; c) correlação entre condições que influenciam a disponibilidade de minerais com a incidência ou severidade de doenças; d) combinação de todos os três efeitos (HUBER, 1980).

Para Zambolim et al. (2001), dentro do triângulo que determina a doença (ambiente-patógeno-hospedeiro), os nutrientes podem afetar direta ou indiretamente o hospedeiro, o patógeno e o meio ambiente, predispondo as plantas ao ataque dos patógenos atuando direta ou indiretamente; induzir resistência ou tolerância à planta hospedeira; reduzir ou aumentar a severidade das doenças; e afetar o ambiente que tanto pode favorecer como desfavorecer os patógenos.

#### 2.4.2 *Trichoderma* spp. como controlador biológico

O uso de pesticidas inclui frequentemente falhas no controle de patógenos, contaminação ambiental e danos à saúde humana. Os fungicidas, por serem aplicados, em muitos casos, no solo, têm atingido e contaminado águas superficiais e subterrâneas. Em contrapartida, o controle biológico de fitopatógenos pode ser alcançado visando a substituir o uso de produtos químicos por práticas de manejo para favorecer antagonistas nativos e também através da introdução de microrganismos selecionados (MELO, 1998).

No contexto do controle biológico, a doença é mais do que uma íntima interação do patógeno com o hospedeiro influenciada pelo ambiente. Assim, doença é o resultado de uma interação entre hospedeiro, patógeno e diversos não-patógenos que também habitam no sítio de infecção e que apresentam potencial para limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro (COOK, 1985 apud BETTIOL e GHINI, 1995). Desse modo, os componentes do controle biológico são o patógeno, o hospedeiro e os antagonistas, sob a influência do ambiente, todos interagindo num sistema biológico (BETTIOL e GHINI, 1995).

A introdução de antagonistas adaptados ao microhabitat do patógeno é um aspecto relevante para muitos sistemas planta-patógeno. No entanto, com algumas exceções, antagonistas podem ser introduzidos em outro ambiente diferente daquele onde foram isolados, estabelecerem-se e parasitarem o patógeno. O sucesso do biocontrole, no entanto, dependerá da natureza das propriedades antagonistas e mecanismos de ação do hiperparasita. Muitos fungos e bactérias inibem fitopatógenos pela competição por nutrientes, pelo parasitismo direto e pela produção de metabólitos secundários (enzimas líticas e antibióticos), indução de resistência, entre outros (MELO, 1998; HOWELL, 2003).

O controle biológico, diferentemente do químico, não apresenta efeito imediato e total e, geralmente, seu efeito pode estar abaixo do necessário, havendo a necessidade da integração com outros métodos de controle, estabelecendo-se o que se chama de controle integrado. Algumas lacunas no conhecimento impedem o pleno sucesso do controle biológico, dentre essas, um melhor entendimento sobre a ecologia do patógeno e do antagonista. Muitos microrganismos, quando cultivados em grande escala e sucessivamente, podem perder ou reduzir sua capacidade patogênica, diminuindo a eficiência e a credibilidade do controle (GRIGOLETTI JUNIOR et al, 2000).

*Trichoderma* spp. é um deuteromiceto, subclasse Hifomicetes, ordem Moniliales, família Moniliaceae, que produz abundantes conídios em conidióforos, emergindo



diretamente das hifas. É um fungo de solos orgânicos, vivendo saprofiticamente ou parasitando outros fungos, sendo um antagonista eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos. Várias espécies têm sido utilizadas em biocontrole, entretanto, *Trichoderma harzianum* é a espécie mais estudada. Elas têm sido utilizadas no controle de patógenos radiculares, como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. e *Armillaria* spp., e da parte aérea, como *Venturia* spp., *Botrytis* spp, etc. *Trichoderma* pode atuar, via de regra, por meio de um ou da associação dos seguintes mecanismos: parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência (MARTINS-CORDER e MELO, 1998 apud MELO, 1998; HOWELL, 2003). Muitas espécies já estudadas possuem a capacidade de produzir metabólitos secundários tóxicos, tais como antibióticos e enzimas líticas capazes de inibir e destruir propágulos de fungos fitopatogênicos. Não se conhece, no entanto, o papel desses antibióticos *in situ*. Em condições de laboratório, *Trichoderma* produz uma gama de antibióticos com efeitos pronunciados contra fungos e bactérias, tanto de interesse agrícola como de interesse na medicina (MELO, 1998).

Enzimas líticas extracelulares degradadoras da parede celular de muitos fungos, tais como quitinases, celulases,  $\beta$ -1,3-D-glucanases,  $\beta$ -1,4-glucosidase e proteases estão envolvidas no processo de parasitismo de *Trichoderma* spp. (RIDOUT et al., 1986). Elad et al. (1982) sugeriram que linhagens de *Trichoderma* spp. podem ser selecionadas como agentes de biocontrole, com base na atividade de  $\beta$ -1,3-D-glucanase e quitinase, como quitina e glucana sendo, talvez, os substratos mais prováveis de ataque nas paredes de células de fungos fitopatogênicos. *Trichoderma* pode detectar e localizar hifas de fungos suscetíveis, crescendo em sua direção, presumivelmente em resposta a estímulos químicos produzidos pela hifa hospedeira, geralmente se enrolando fortemente em toda a sua extensão, para, depois, penetrá-la.

Em fumo, o tombamento causado pelos fungos de solo *Pythium* sp., *Sclerotinia* sp. e *Rhizoctonia* sp. é muito importante nas áreas de cultivo no sul do País. Esses fungos podem ser controlados com produtos biológicos à base de *Trichoderma*. Esse antagonista atua por parasitismo no controle dos principais fungos causadores de doenças nas mudas. As doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* e *F. solani*, são de grande importância para as culturas de feijão, soja, algodão e milho cultivados no sistema irrigado. Para esses, o controle por meio de fungicidas tem eficiência baixa. Os produtos à base de *Trichoderma* têm uma boa eficiência e são de fácil aplicação, pois podem ser aplicados na água da irrigação ou inoculados nas sementes, e o custo é aproximadamente, um terço do custo dos fungicidas (MORANDI et al., 2005).

Menezes (2007), testando a introdução de diferentes isolados de *Trichoderma* spp. ao substrato para biocontrole de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, causador de murchar vascular em crisântemo, alcançou 100% de controle com o isolado UFSMT15.1. Ethur (2006) observou que a adição de *Trichoderma harzianum* em substrato cultivado com tomateiro e pepineiro reduziu a população de *Fusarium oxysporum* e *F. solani* e foi eficiente na redução da fusariose dessas culturas, além de influenciar no aumento e no estabelecimento da densidade populacional de *Trichoderma* spp. na rizosfera durante o ciclo das culturas.

As chances de sucesso no controle biológico, entre outros fatores, estão fundamentadas na escolha do patossistema apropriado e da escolha acertada do agente de biocontrole para as condições em que a doença é prevalente (MELO, 1998).

#### 2.4.3 O ambiente como precursor de suscetibilidade de plantas a doenças

As doenças resultam da interação patógeno x hospedeiro sob influência do ambiente. Nas doenças do sistema radicular, a interação patógeno x hospedeiro ocorre no solo, ambiente altamente complexo e dinâmico em que vários fatores bióticos e abióticos influenciam direta ou indiretamente as doenças. No solo, as variações são regra e não exceção. Essas variações podem ser causadas por fatores abióticos (temperatura, umidade, pH, teor de matéria orgânica, propriedades físicas e químicas) e bióticos (as plantas e a microbiota do solo) (MAFFIA e MIZUBUTI, 2005).

Segundo Bressan (2004), em condições naturais ou agricultáveis, as plantas são freqüentemente expostas a algum estresse ambiental, que é definido por um fator externo que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta. Alguns fatores dessa natureza, como a temperatura do ar, por exemplo, podem se tornar estressantes em poucos minutos, enquanto que outros, como o conteúdo de água no solo, podem levar dias ou até semanas. Ademais, fatores como as deficiências minerais do solo necessitam de maior tempo para se manifestar.

A adaptação e a aclimatação ao estresse ambiental resultam de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o anatômico e morfológico até o celular, bioquímico e molecular. As respostas ao estresse incluem mudanças no ciclo e divisões celulares, mudanças no sistema de endomembranas e vacuolização bem como alterações na arquitetura da parede celular. Bioquimicamente, as plantas alteram o

metabolismo de várias maneiras para acomodar o estresse ambiental, incluindo a produção de compostos osmorreguladores, tais como prolina e glicina betaína (BRESSAN, 2004).

A estabilidade de membranas celulares é importante durante o estresse à alta temperatura, assim como durante o resfriamento e o congelamento. Sob temperaturas altas, ocorre um decréscimo na força das ligações de hidrogênio e das interações eletrostáticas entre os grupos polares de proteínas na fase aquosa da membrana. Assim, as temperaturas altas ou muito baixas modificam a composição e a estrutura da membrana e podem causar perda de íons. A ruptura das membranas também causa a inibição de processos como a fotossíntese e a respiração, as quais dependem da atividade dos transportadores de elétrons e enzimas associadas a membranas (BRESSAN, 2004).

Como a erva-mate habita naturalmente o sub-bosque de florestas - por exemplo, as matas de araucária no Brasil - onde as variações ambientais durante o ano são minimizadas dentro do ambiente da floresta, o plantio homogêneo da espécie fora de seu habitat natural pode proporcionar um estresse ambiental, mesmo que mantenha uma boa produção. Esses sintomas são visíveis em ervais puros e se apresentam sob a forma de alterações no sabor e na cor da folha, diminuição da área foliar, observando-se, em períodos de menor precipitação, a estagnação do crescimento e a perda excessiva de folhas, chegando até à morte parcial ou total de plantas, o que não acontece em seu ambiente natural (Alzenir Comin, Anta Gorda, janeiro de 2007, Jurandir José Marques, Ilópolis, março de 2009, informação pessoal).

O conhecimento das condições favoráveis à infecção e colonização é importante para o estabelecimento de medidas de controle, que visam, em última análise, desfavorecer o patógeno em quaisquer fases do estabelecimento da doença. Os fatores do ambiente determinam a distribuição geográfica, a incidência e a severidade da doença, sendo, em muitos casos, específicos para o patógeno em questão. Dentre esses fatores, a temperatura é a mais freqüentemente correlacionada com a epidemiologia da doença, seguida pela umidade e pela luz, além da nutrição e do pH do solo (AGRIOS, 2005; ANDRADE et al, 2007).

#### 2.4.4 Patógenos em sementes e mudas

A maioria dos patógenos serve-se das sementes como veículo de transporte e como abrigo à sobrevivência (MACHADO, 2000). A semente, portanto, está diretamente envolvida na continuidade do ciclo biológico dos patógenos de uma a outra geração do hospedeiro. Por

meio dessa associação, os patógenos sempre acompanham os seus hospedeiros, pois dependem nutricionalmente da planta. A associação dos patógenos com as sementes garante o acesso direto do parasita à fonte nutricional por ocasião da germinação e emergência (CASA et al., 2005).

Trabalhos envolvendo a relação de fungos associados e transmitidos pelas sementes são fundamentais para explicar o desenvolvimento de epidemias. O conhecimento detalhado da transmissão semente-plântula é a base científica para a definição de algumas estratégias de controle que envolvem o manejo integrado de doenças, pois se define, assim, se o inóculo causador da doença chegou à área através da transmissão eficiente pela semente ou por outra via (CASA et al., 2005).

Como qualquer grupo de patógenos, os fungos são disseminados por vários vetores, como vento, água, insetos e animais, mas nenhum vetor de disseminação é tão eficiente quanto as sementes, uma vez que o patógeno veiculado por elas tem maior chance de provocar doenças nas plantas delas oriundas e se espalhar para outras plantas saudáveis, iniciando assim uma epidemia (DHINGRA, 2005).

Segundo Agarwal e Sinclair (1996) e Dhingra (2005), a infecção de uma semente por um patógeno pode ocorrer por diversas rotas:

a) a infecção sistêmica ocorre quando o patógeno cresce sistematicamente pelo sistema, vascular ou não; pela flor; pelo pedicelo; pedúnculo ou funículo. A maioria dos patógenos causadores de murcha-vascular segue a rota do sistema vascular e entra na semente através do funículo. Os patógenos mais comuns nesse grupo são *Fusarium oxysporum* e *Verticillium dahliae*;

b) a infecção via estigmas de flores, podendo ser classificada como infecção sistêmica, uma vez que o patógeno chega até a semente através de colonização sistêmica de estigmas, seguindo o caminho do tubo polínico. Alguns patógenos infectam sementes unicamente por esta via. A infecção de sementes de milho por *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* e *F. graminearum* ocorre, primariamente, por deposição do inóculo nos estigmas. Os conídios germinam nos estigmas e, por meio da colonização de estilo, o fungo chega até as sementes;

c) infecção local via pericarpo e tegumento. Esta é o mecanismo mais comum de infecção por patógenos necrotróficos. Primeiramente, o patógeno infecta o pericarpo, em seguida, o micélio estende-se da parede interna do pericarpo colonizado até o tegumento de sementes. O patógeno localiza-se no tegumento e, se a infecção da semente ocorrer

precocemente ou as condições ambientais forem favoráveis, também poderá ser encontrado nos tecidos mais internos da semente;

d) muitos patógenos veiculados por sementes ficam passivamente aderidos à superfície. Em geral, a contaminação superficial pode ocorrer durante a colheita, ou em operações pós-colheita, mas isso pode ocorrer ainda na planta, quando o patógeno, na cavidade do fruto, começa a esporular, deixando os esporos na superfície da semente.

Para Agarwal e Sinclair (1996), patógenos associados a sementes podem ser transmitidos como uma infecção ou infestação. Infecção significa que o patógeno é associado internamente, dentro do tecido da semente e, infestação, significa que o patógeno é associado passivamente, nos tecidos externos. Neste último caso, ele pode ser carregado aderido à superfície da semente ou misturado a elas, na forma de partes da planta infectadas, restos de frutos ou partículas de solo contaminadas. Todas as partes da semente podem ser infectadas, entretanto, alguns patógenos podem permanecer em uma estrutura restrita da semente ou em mais de uma. A localização e a quantidade do inóculo dentro da semente dependem do tipo de patógeno, do modo e do tempo de infecção, das condições ambientais no momento da infecção, entre outros. Espécies do gênero *Fusarium*, por exemplo, dependendo da espécie hospedeira, pode contaminar todas as partes da semente.

Na patologia de sementes florestais existem poucos estudos sobre o grau de importância e epidemiologia de patógenos transmitidos por sementes, principalmente em se tratando de espécies nativas (CHEROBINI, 2006). As sementes são atacadas tanto no campo, quanto nas operações subsequentes, colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento (CARNEIRO, 1990). No entanto, a presença de patógenos em sementes é apontada como ameaça séria à qualidade das mesmas, causando sua podridão, decréscimo do poder germinativo, menor desenvolvimento de plântulas, principalmente, nos primeiros estágios, necrose do sistema radicular, lesões no colo das mudas, tombamento, murcha e morte de plântulas (CARNEIRO, 1986).

Segundo Santos et al. (2000), semente de qualidade é um dos suportes fundamentais de um empreendimento florestal. A epidemia de muitas doenças pode ter início com o inóculo contido na semente, além de esta ser um dos veículos mais importantes de transmissão de patógenos podendo estes atuar na semente pelos seguintes processos:

a) os patógenos presentes nas sementes tornam-se ativos logo que as sementes são semeadas e umedecidas, e estas apodrecem antes de germinar;

b) o patógeno poderá não atacar a semente, mas sim a plântula, quando esta estiver emergindo do solo; em ambos os casos poderá causar um subpopulação de plântulas;

c) alguns patógenos não afetam as sementes ou a emissão das plântulas, mas infectam a planta sistematicamente, reduzindo seu vigor e só manifestando sintomas mais tarde. Nem todos os patógenos que causam podridões ou crestamentos infectam a plântula sistematicamente, alguns causam lesões nos cotilédones, produzindo esporos que dão origem ao inóculo secundário, o qual irá infectar as plântulas oriundas de sementes saudáveis. Assim, uma semente infectada dá origem a uma plântula doente que, por sua vez, contamina as outras saudáveis.

Segundo Mendes et al. (2005), para a obtenção de uma boa muda é necessário o controle de sanidade e de qualidade da semente utilizada, pois esta poderá servir como veículo de propagação e disseminação de patógenos. Por isso, a busca pela obtenção de sementes isentas de fitopatógenos é necessária para o estabelecimento de populações florestais promissoras. De modo geral, vários danos podem ser provocados por patógenos associados às sementes, dentre eles, morte em pré-emergência, podridão-radicular, tombamento-de-mudas (damping-off), manchas necróticas em folhas, caules, deformações como hipertrofias e subdesenvolvimento, descoloração de tecidos e infecções latentes. Em espécies florestais, estes danos podem também ocorrer, levando à redução drástica da produção de mudas em viveiros e ao aumento dos custos dos reflorestamentos.

Cram e Fraedrich (2009) apontam os seguintes fungos como principais patógenos transmitidos por sementes de espécies florestais na América do Norte: *Fusarium circinatum* Nirenberg and O'Donnell, *Fusarium oxysporum* (Schlecht.), *Fusarium moniliforme* var. *moniliforme* (Sheld.), *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. e Maubl., *Sirococcus conigenus* (DC.) P. Cannon e Minter, *Diplodia pinea* (Desmaz.) J. Kickx Fil. e *Trichothecium roseum* (Link). Todos eles causando doenças, como podridão-de-sementes, podridão-de-raízes, “damping-off”, morte-súbita, morte-de-brotos e cancos, principalmente em hospedeiros do gênero *Pinus* spp., *Pseudotsuga* sp., *Abies* sp., *Picea* spp. e *Tsuga* sp. Os mesmos autores, citando Salt (1974), ressaltam que estes fungos são particularmente importantes porque podem espalhar a doença para outras sementes, saudáveis, durante o período de estratificação e semeadura.

No Brasil, os principais gêneros fúngicos associados a sementes de espécies florestais são: *Fusarium*, *Rizoctonia*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryodiplodia*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Diplodia*, *Gilmaniella*, *Helminthosporium*, *Macrophoma*, *Monocillium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Pithomyces*, *Peyroneleaea*, *Oidiodendron*, *Trichoderma*, *Phomopsis*, *Ascochyta*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Torula*, *Trichothecium*, *Graffhium*, *Sthempylum*, *Botryodiplodia*,

*Cephalosporium*, *Dothiorella*, *Gliocladium*; *Rhizopus*; *Botrytis*; *Drechslera*; *Thiellaviopsis*; *Cephalosporium* e *Neurospora* (NETTO e FAIAD, 1995; SANTOS, 1998; SANTOS et al., 2001; WIELEWSKI et al., 2002; MUNIZ et al., 2007; REGO et al., 2008; ARAÚJO, 2008; LIMA et al., 2009).

A detecção de fungos patogênicos associados a sementes é um aspecto importante no manejo de doenças. Essa detecção permite a aplicação adequada de técnicas de controle ou modificações nas práticas de manejo para evitar problemas futuros. Porém, a presença de patógenos em sementes, na maioria das vezes, não é detectada com a observação direta ou em microscópio, pois muitos patógenos infectam a semente e não ocasionam sintomas (sinais) visuais. Assim, na maioria das vezes, é necessário o plaqueamento de amostras de sementes em diferentes meios de cultura. Mesmo assim, é necessário cuidado, pois o crescimento de fungos saprófitas pode ofuscar a presença de patógenos (LITTKE, 1997 apud CRAM e FRAEDRICH, 2009).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em ervais**

##### **3.1.1 Local de estudo e escolha das propriedades**

A região em estudo localiza-se, aproximadamente, entre as latitudes 28°49' até 29°03' S e longitudes 51°55' até 52°20' O, conhecida como região alta do Vale do Taquari-RS, compreendendo os municípios de Anta Gorda, Arvorezinha, Ilópolis, Putinga e Doutor Ricardo, apresentando altitudes que variam de 200 a 800 m. O relevo é ondulado a montanhoso (BRASIL, 1973). Em relevo mais acidentado, predominam os Neossolos Litólicos e Chernossolos Argilúvicos. Onde o relevo é mais suave, predominam Argissolos Vermelhos e Nitossolos Vermelhos (STRECK et al., 2002). O clima, segundo a classificação climática de Köppen, é Cfa, subtropical, com temperatura média do mês mais frio compreendida entre -3° e 18°C e temperatura média do mês mais quente superior a 22°C. A precipitação média anual é de 1800 mm, sendo bem distribuída ao longo do ano (MORENO, 1961).

Inicialmente, com a ajuda dos técnicos da EMATER-RS, foram identificadas propriedades rurais que possuíam ervais com sintomas de podridão-de-raízes e, também, algumas propriedades com ervais saudáveis, em plena produção. Em seguida, os proprietários foram contatados para solicitar permissão para a realização de estudos em suas propriedades.

Foram selecionadas para o estudo 25 propriedades rurais (foram selecionadas de forma aleatória entre as que estavam listadas), sendo sete propriedades com ervais saudáveis e 18 com ervais apresentando sintomas da podridão-de-raízes. As propriedades denominadas CG1, CG2, IP, AR e VD localizam-se no município de Anta Gorda; VG1, VG2, JS e JD no município de Arvorezinha; VM1, VM2, SB1, SB2, SB3, LE, LP, SR, AC, CD, CR1, CR2, LB e ND no município de Ilópolis; e, VB e DB no município de Putinga.



### 3.1.2 Levantamento de informações nas propriedades amostradas

Em fevereiro de 2010, as propriedades foram visitadas para coleta de informações sobre as técnicas de manejo e cultivo dos ervais, através da aplicação de um questionário (Apêndice 1) ao proprietário, constituído pelas seguintes perguntas: 1- Qual a idade do erval? 2 - Que tipo de adubo é aplicado? 3 - Há quantos anos ocorrem os sintomas da doença? 4 - Qual o espaçamento de plantio? 5 - Que tipo de controle de inço (plantas daninhas)? 6 - Qual a intensidade de podas? 7 - Qual é a época da principal poda? 8 - O erval é ou foi consorciado com alguma cultura agrícola?

Os dados levantados com as respostas foram expressos em porcentagem.

### 3.1.3 Quantificação da incidência e severidade da podridão-de-raízes

Como em todas as propriedades amostradas a podridão-de-raízes manifestou-se na forma de reboleira no meio do erval, o número de plantas mortas e sintomáticas presentes foi contado. Em seguida, atribuiu-se uma nota para cada planta, sendo que as plantas mortas receberam nota 50 e cada planta com sintoma recebeu nota 10, 20 ou 30, de acordo com seu grau sintomático (leve, moderado ou intenso) (Apêndice 2). Na ausência de uma metodologia específica para a quantificação da severidade da doença, para este tipo de patossistema, propôs-se a seguinte equação:

$$S = \frac{\sum pm + \sum pd}{a} + 2 \text{ em que:}$$

**S**: severidade da doença; **pm**: plantas mortas; **pd**: plantas doentes; **a**: número de anos que ocorre a doença; **+2**: para que nenhum erval receba-se com a nota 0, assim, erval sadio recebeu nota 2<sup>1</sup>.

Dessa forma, com a quantificação do número de plantas mortas e doentes e, o número de anos em que a doença ocorre, foi possível visualizar a velocidade de progressão da doença. Estas avaliações foram realizadas no mês de novembro de 2009.

---

<sup>1</sup> Em função de análise estatística.

### 3.1.4 Coleta de solo e análises laboratoriais

Em cada propriedade amostrada foram abertas cinco trincheiras entre as linhas de plantio, posicionadas em forma de cruz dentro da reboleira nos ervais doentes e, de forma aleatória nas propriedades sadias (Apêndice 2). Em cada uma, foi retirada uma amostra de solo, na profundidade de 0 a 20 cm e, colocada em um recipiente, onde foi homogeneizada. A partir desta amostra composta foi retirada uma amostra de 200 g, a qual foi embalada em saco plástico, vedada e identificada. Estas amostras foram enviadas, imediatamente, para análise química básica (teores de nutrientes, matéria orgânica e pH) no Laboratório Central de Análises Químicas e Físicas de Solo da UFSM. Outras amostras de 50 g cada, foram coletadas para análise biológica (determinação da comunidade fúngica). Estas, após sua coleta, foram mantidas em geladeira ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) até sua análise, no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi da UFSM. Estas coletas foram realizadas no mês de novembro de 2009.

Para a determinação da comunidade fúngica, 10 g de solo de cada amostra foram diluídos em 90 mL de água destilada e esterilizada, juntamente com duas gotas do emulsificante Tween 80, agitado por 2 min e, partindo dessa suspensão, foram feitas diluições sequenciais de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ . Em cada diluição, foi retirada uma alíquota de suspensão e inoculada em três placas de Petri ( $0,5 \text{ mL placa}^{-1}$ ) contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com 4,0 mg de estreptomicina (concentração de 70%)/100 mL de meio. As placas inoculadas foram mantidas em câmara de crescimento por seis dias a  $24^{\circ}\text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas e, após esse período, os fungos presentes foram identificados e quantificados, em nível de gênero, pelas observações das placas diretamente no microscópio estereoscópico e com confecção de lâminas para observação em microscópio óptico, com base na bibliografia especializada (BARNETT e HUNTER, 1999; LUZ et al., 2001). O número de unidades formadoras de colônia (UFCs) de cada gênero fúngico presente foi determinado através das equações citadas por Carter (1993):

$$FD = Di \times Ds \times Q, \text{ em que:}$$

**FD** = Fator de diluição, **Di** = Diluição inicial, **Ds** = Diluição subsequente, **Q** = Quantidade colocada na placa.

$$UFCs = \frac{1}{FD} \times n, \text{ em que:}$$

**UFCs** = Unidades formadoras de colônias, **n** = Número de colônias contadas na placa.

As colônias de *Trichoderma* spp. crescidas nas placas com diluição de solo, foram repicadas e purificadas de acordo com a metodologia descrita por Fernandes (1993) e, em seguida, repicadas para tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, devidamente identificados e armazenados para estudos posteriores.

### 3.1.5 Procedimento estatístico

Correlações entre caracteres, como por exemplo, características do solo que propiciam a incidência de doenças são objeto de estudo em diferentes trabalhos científicos. Apesar da grande utilidade dessas estimativas no entendimento em um caráter complexo, as correlações não determinam a importância relativa das influências diretas e indiretas desses caracteres que compõem a severidade da doença.

Para melhor entender as causas envolvidas nas associações entre caracteres, Wright (1921) citado por Lopes e Rigão (2006) propôs um método denominado análise de trilha (path analysis), que desdobra as correlações estimadas em efeitos diretos e indiretos de caracteres sobre uma variável principal. Um coeficiente de trilha ou análise de causa e efeito pode ser definido como um coeficiente de regressão, estandardizado ou padronizado, sendo que a análise de trilha é composta por uma expansão da regressão múltipla, quando estão envolvidas inter-relações complexas (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

Para o sucesso desta análise faz-se necessário que os dados tenham distribuição normal, e que, não haja multicolinearidade entre as variáveis explicativas.

Para verificação da normalidade dos dados, os valores obtidos nas variáveis foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk em nível de 5% de probabilidade de erro, através do software estatístico BioEstat 5.0.

Foram estimados coeficientes de correlação de Pearson (STEEL et al., 1997) entre as características de manejo e cultivo dos ervais, comunidade fúngica do solo e características químicas do solo. Sobre a matriz das correlações entre as características, procedeu-se o diagnóstico da multicolinearidade (CRUZ e CARNEIRO, 2003), visando-se a eliminação de variáveis causadoras de multicolinearidade, dando-se preferência para a eliminação das características em que o efeito não foi significativo. Em seguida, as correlações entre as características restantes e a incidência e severidade da doença (variável dependente) foram desdobradas em efeitos diretos e indiretos pela análise de trilha, estabelecendo-se as relações

de causa e efeito entre as características, conforme descrito na literatura (VENCOVSKY e BARRIGA, 1992; CRUZ e REGAZZI, 1997; CRUZ e CARNEIRO, 2003). Estas análises foram realizadas com o uso do software estatístico Genes (CRUZ, 2001).

### **3.2 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em viveiros**

#### **3.2.1 Demarcação dos viveiros para estudo**

Inicialmente, foram identificados viveiros produtores de mudas de erva-mate na região do Vale do Taquari – RS. Em seguida, os proprietários foram contatados para solicitar a permissão para a realização de estudos em seus viveiros. Foi coletado material em viveiros localizados nos municípios de Anta Gorda, Arvorezinha e Ilópolis.

#### **3.2.2 Coleta de amostras e análises laboratoriais**

Durante um ciclo de produção de mudas no viveiro (2009 – 2010) procederam-se as coletas de sementes, plântulas, mudas e substrato que foram analisados no Laboratório de Fitopatologia Elocy Minussi e no Laboratório Central de Análises Químicas e Físicas de Solo, ambos da UFSM. Cada amostra coletada foi identificada, com as iniciais do nome do proprietário e do tipo de amostra.

Foram coletadas sementes recém lavadas (SRL) (despolpadas), sementes no final do processo de estratificação (SFE), sementes em sementeira (SS) e sementes em plantio direto (SPD), aproximadamente 20 dias após a semeadura. As amostras coletadas foram armazenadas em sacos plásticos, devidamente vedadas, identificadas e mantidas em geladeira ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ).

As sementes recém lavadas estavam depositadas sobre sacos de papel à sombra para secarem, antes de serem colocadas para a estratificação. A coleta, nos diferentes viveiros, foi realizada de dois a oito dias após a lavagem, com auxílio de uma espátula.

No processo de estratificação, as sementes permanecem durante três a quatro meses misturadas à areia ou solo arenoso e mantidas úmidas, em uma caixa de madeira ou saco plástico (saco de ráfia) para amadurecimento do embrião. Na coleta das sementes que estavam em estratificação, todo o volume de semente e areia contido na caixa ou saco foi homogeneizado e, com uma espátula, foi coletada uma amostra.

Para as sementes que estavam na sementeira, estas foram coletadas juntamente com o substrato, com uma espátula, em seis pontos distintos na sementeira e de forma aleatória. Para a coleta de sementes em plantio direto, foi coletado sementes, juntamente com o substrato de cerca de 30 recipientes, em pontos distintos do viveiro.

Para a análise, inicialmente, as sementes foram lavadas em água corrente sobre uma peneira de malha para retirar o substrato e, com auxílio de uma pinça, estas foram separadas do material restante. Em seguida, foram lavadas novamente, primeiramente com uma solução de álcool a 70% (v/v) por 1 min e, depois, em uma solução de hipoclorito a 3% (v/v) por mais um minuto (TANAKA, 1987). Depois da desinfestação, 100 sementes de cada amostra foram colocadas em câmara úmida em caixas plásticas tipo gerbox, contendo papel filtro umedecido, e incubadas a 24°C com fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Após esse período, as sementes foram observadas em microscópio estereoscópico e, também, em lâminas para observação em microscópio óptico. Com base na bibliografia especializada (BARNETT e HUNTER, 1999; LUZ et al., 2001) foram determinados os gêneros fúngicos presentes em cada semente e a porcentagem de incidência.

Também foram coletadas plântulas em sementeira (MS) e diretamente nas embalagens no plantio direto<sup>2</sup> (MPD). Estas foram devidamente embaladas e mantidas em geladeira ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) até sua análise. Para isso, as plântulas foram lavadas em água corrente para remoção de restos de substrato presente junto às raízes. Em seguida, a parte aérea foi retirada e o restante, contendo a parte radicular e a região do colo, foi lavado novamente, primeiramente com uma solução de álcool a 70% (v/v) por 1 min e, depois, em uma solução de hipoclorito a 3% (v/v) por mais um minuto (TANAKA, 1987), sendo, depois, transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA suplementado com 4,0 mg de estreptomicina (concentração de 70%)/100 mL de meio. Em cada placa foram colocadas dez plântulas (parte radicular) e, cada amostra foi composta por três placas, totalizando trinta plântulas. As placas foram mantidas em câmara de crescimento por seis dias a 24°C, com

---

<sup>2</sup> Há duas técnicas de semeadura para produção de mudas de erva-mate. A tradicional, com semeadura em sementeiras e, a semeadura direta, em que as sementes são colocadas diretamente nos recipientes, onde as mudas permanecem até estarem prontas para plantio a campo.

fotoperíodo de 12 horas e, após esse período, foram quantificados e identificados os fungos presentes, em nível de gênero, pelas observações das placas diretamente no microscópio estereoscópico e com confecção de lâminas para observação em microscópio óptico, com base na bibliografia especializada (BARNETT e HUNTER, 1999; LUZ et al., 2001).

Para as amostras de mudas nos recipientes<sup>3</sup> (MR), prontas para a venda, o processo de coleta e análise teve o mesmo procedimento das plântulas em sementeira (MS), exceto sua incubação, que em vez do uso de placas com BDA, ocorreu em caixas plásticas tipo gerbox contendo papel filtro umedecido, por sete dias.

Amostras do substrato utilizado nos viveiros foram coletadas e encaminhadas ao laboratório para análise química básica. Outra amostra foi submetida à análise biológica para determinação da comunidade fúngica, da mesma forma como descrito anteriormente.

Além dessas amostras, foram coletadas flores e frutos de erva-mate em ervais onde os viveiristas geralmente coletam frutos para obtenção das sementes. Em cada erval foram coletadas flores, em cerca de 20 plantas, de forma aleatória. Da mesma forma, foram coletados frutos, no estado fenológico em que começavam a apresentar coloração vermelha. Cem flores e cem frutos de cada erval foram colocados em câmara úmida em caixas plásticas tipo gerbox contendo papel filtro umedecido e incubados a 24°C com fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Uma amostra de frutos foi despulpada e as sementes lavadas, primeiramente com uma solução de álcool a 70% (v/v) por 1 min e, depois, em uma solução de hipoclorito a 3% (v/v) por mais um minuto (TANAKA, 1987) para desinfestação e, em seguida, incubadas nas condições citadas anteriormente. Para estas amostras foram identificados e quantificados os fungos presentes, em nível de gênero.

Os dados obtidos nas avaliações foram expressos em porcentagem.

As colônias dos gêneros *Fusarium* e *Trichoderma*, crescidas nas placas com diluição de substrato, sobre as flores e os frutos, foram isoladas e purificadas de acordo com a metodologia descrita por Fernandes (1993) e, em seguida, armazenadas em tubos de vidro contendo meio de cultura BDA devidamente identificados, para estudos posteriores.

---

<sup>3</sup> Os recipientes utilizados na produção de mudas de erva-mate são sacos plásticos pretos com tamanhos que variam de 10x7cm a 18x12cm, altura e largura, respectivamente.

### 3.2.3 Testes de patogenicidade

Para os testes de patogenicidade, as mudas de erva-mate foram cultivadas em embalagens maiores (18 x 22 cm) para que pudessem permanecer por mais tempo em ambiente de viveiro. Como substrato foi utilizado solo orgânico, coletado na camada 0-10 cm de profundidade, em meio à mata nativa no campus da UFSM. A irrigação foi realizada manualmente, com água de poço artesiano. Quando as mudas estavam com cerca de 40 cm de altura (maio de 2010) foram inoculadas com os isolados de *Fusarium*.

Para produção do inóculo de *Fusarium*, porções das colônias armazenadas em tubos de ensaio foram retiradas e transferidas para frascos de vidro contendo 30g de arroz (sem casca, tipo parboilizado) previamente umedecido e autoclavado (30 min a 121°C a 1 atm). Depois de inoculados, os frascos permaneceram na câmara de incubação a 24°C com fotoperíodo de 12 horas por 20 dias. Após esse período, os grãos de arroz contendo o fungo crescido, foram agitados com um bastão de vidro e, em seguida, inoculados na profundidade de 2 cm, no substrato dos recipientes das mudas. Cada frasco contendo 30 g de arroz foi inoculado em quatro mudas (7,5 g por muda). Estas foram separadas das demais para evitar contaminação. Quatro mudas permaneceram sem inoculação, como testemunhas.

Duas semanas após a inoculação começaram as avaliações semanais observando-se, visualmente, o aparecimento de sintomas da doença.

### 3.3 Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Fusarium* spp.

Para os ensaios experimentais, foram utilizados 13 isolados de *Trichoderma* spp. obtidos nas análises de flores, frutos, sementes, mudas e substrato, como descrito anteriormente, e um isolado de *Fusarium* (DC-SPD-F4) obtido a partir de sementes em plantio direto.

Para a seleção de isolados de *Trichoderma* spp., antagonistas ao *Fusarium* sp., utilizou-se o teste de pareamento de culturas. Para isso, um disco de meio de cultura BDA (10 mm de diâmetro) contendo micélio do patógeno foi colocado a uma distância de 0,5 cm do bordo da placa de Petri, com diâmetro de 9,0 cm, contendo meio BDA. As placas foram incubadas por 48 horas a 24°C, com fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, foi colocado

um disco de meio de cultura (10 mm de diâmetro) contendo micélio de *Trichoderma* spp. na outra extremidade da placa (ETHUR, 2006). As placas foram incubadas em câmara de crescimento a 24 °C, com fotoperíodo de 12 h, por sete dias.

Para obtenção dos discos de meio com os fungos, os isolados foram cultivados em placas de Petri com meio de cultura BDA e incubados a 24°C com fotoperíodo de 12 horas por 10 dias.

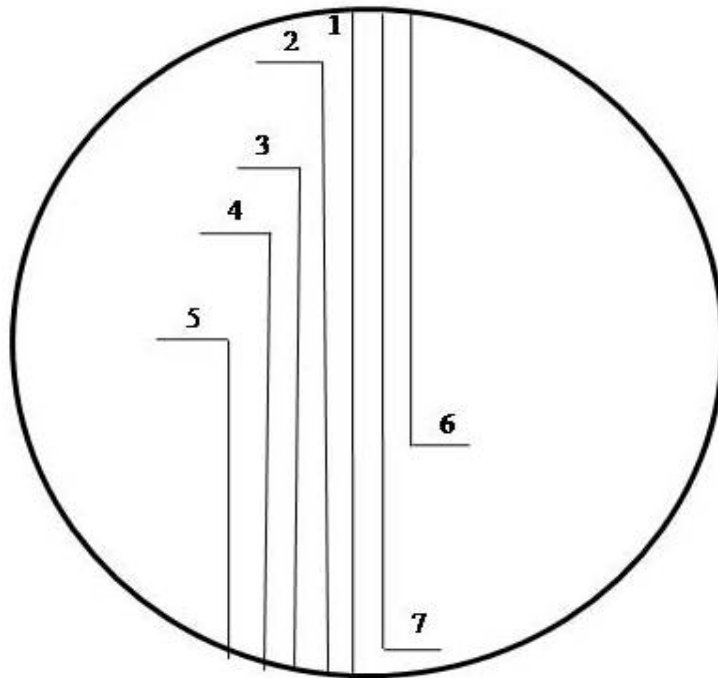
Para avaliação dos testes de pareamento de culturas utilizou-se o modelo de notas de Bell et al. (1982), adaptado por Rodrigues (2010), atribuindo-se notas que variam de 1 a 7, conforme observado na Tabela 1.

**Tabela 1** - Escala utilizada para o teste de pareamento de culturas.

| Notas | Escala de avaliação proposta por Rodrigues (2010)  |
|-------|--|
| 1     | Antagonista cresce por toda a placa de Petri e sobre o disco do patógeno;                      |
| 2     | Antagonista cresce por toda a placa de Petri, porém não se sobrepõe sobre o disco do patógeno; |
| 3     | Antagonista cresce sobre 3/4 da placa;   |
| 4     | Antagonista cresce sobre 2/3 da placa;   |
| 5     | Antagonista e patógeno crescem até a metade da placa;  |
| 6     | Patógeno cresce sobre 2/3 da placa;  |
| 7     | Patógeno cresce por toda a placa de Petri.   |

No momento da avaliação, quando as notas foram atribuídas, buscando uma melhor uniformidade nas avaliações, foi utilizado um gabarito sob o fundo das placas, em que foi possível visualizar as notas conforme o crescimento das colônias (Figura 2).





**Figura 2** - Gabarito com a escala utilizada para atribuição das notas no teste de pareamento de culturas. Fonte: Rodrigues (2010).

A partir dos dados referentes ao teste de pareamento de culturas foi realizada a análise da variância e, nos casos de significância estatística, foi aplicado o teste de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Para estas análises utilizou-se o software estatístico SASM-Agri 3.2.4 (ALTHAUS et al, 2001).

### **3.4 Controle da podridão-de-raízes e do “damping-off” em plântulas na sementeira**

#### **3.4.1 Localização e composição dos experimentos**

Em dois viveiros localizados na comunidade de Itapuca, Anta Gorda – RS, foram instalados experimentos para testar a eficiência do tratamento químico e biológico no controle da mortalidade de mudas. Estes viveiros foram escolhidos pelo fato de que todos os anos ocorrem perdas de mudas em consequência da doença.

Em ambos os viveiros foram realizados os mesmos experimentos, identificados com as iniciais do nome do proprietário, AR e SP. Para isso, foi utilizado o delineamento experimental blocos ao acaso (DBC) com três repetições para os seguintes tratamentos: T1 –

aplicação de Agrotlich<sup>®</sup>, T2 – aplicação de Trichodel<sup>®</sup>, T3 – aplicação de Captan SC<sup>®</sup>, T4 – testemunha.

As técnicas de preparo da sementeira e de cultivo das plântulas foram aquelas normalmente utilizadas pelos viveiristas, somente diferindo a aplicação dos tratamentos. As características dos produtos biológicos Agrotlich<sup>®</sup> e Trichodel<sup>®</sup> e do fungicida Captan SC<sup>®</sup>, utilizados no experimento, estão descritas no Apêndice 3.

### 3.4.2 Instalação dos experimentos

Para o preparo da sementeira (agosto de 2009) foi utilizada, inicialmente, uma camada de substrato (5 - 8 cm de espessura), o qual foi levemente pressionado para que a superfície ficasse uniformizada a fim de facilitar a semeadura. Nas bordas da sementeira e nas divisões entre os tratamentos, foram utilizadas tábuas de madeira (o croqui do experimento encontra-se no Apêndice 4). Após a semeadura, as sementes foram cobertas com cerca de 2 cm de substrato (Apêndice 5). Para a cobertura da sementeira, foram colocados arcos de ferro para dar sustentação a uma lona plástica transparente, presa nas laterais. A estrutura do viveiro foi composta por sombrite com cerca de 25% de sombreamento, posicionado a 2 m de altura. A lona da cobertura foi retirada a cada trinta dias para que a sementeira recebesse água da chuva e, quando necessário, foi irrigada com água de poço artesiano. O controle de plantas daninhas foi realizado com aplicação de herbicida (Roundup<sup>®</sup>), antes da germinação das plântulas de erva-mate e, após a germinação, com a catação manual.

O substrato utilizado em ambos os viveiros foi composto pela mistura de solo arenoso, coletado nas margens de um rio, e solo orgânico, coletado na camada de 0 – 20 cm de profundidade em meio à mata nativa. Antes do uso, o substrato foi peneirado com uma peneira fina (malha 0,5 cm) para a retirada do material grosseiro.

No experimento AR, a sementeira possuía 9,5 m de comprimento por 1,55 m de largura e foram semeados 2 kg de sementes. O experimento SP possuía 9,84 m de comprimento por 1,4 m de largura e foram semeados 2 kg de sementes (Apêndice 5). Estas sementes estavam há cerca de quatro meses em processo de estratificação, misturadas à areia umedecida. Previamente à instalação do experimento, as sementes foram separadas da areia com auxílio de uma peneira.

Para aplicação dos tratamentos, as sementes foram pesadas e colocadas em quatro recipientes. Em seguida, o Agrotich<sup>®</sup> (tratamento T1) foi adicionado a um dos recipientes, na proporção de 100 g por kg de semente e misturado até ficar homogêneo. Da mesma forma ocorreu com os demais tratamentos. O Trichodel<sup>®</sup> foi aplicado na proporção de 100 mL do produto por kg de semente, diluído em água (100 mL de produto em 200 mL de água). O Captam SC<sup>®</sup> foi aplicado na quantidade de 3 mL do produto por kg de semente, diluído em 200 mL de água.

### 3.4.3 Coleta de material e análises laboratoriais

Uma amostra de substrato, utilizado no preparo das sementeiras, foi coletada previamente à aplicação dos tratamentos. Outras amostras, do mesmo material, foram coletadas dois meses após a aplicação dos tratamentos e enviadas para análise química e biológica, da mesma forma como descrito no item 3.2.1. A coleta após a aplicação dos tratamentos ocorreu da seguinte forma: porções de substrato foram coletadas em cada repetição, para cada tratamento, e colocadas em um recipiente para homogeneização. Em seguida, foi retirada apenas uma amostra composta.

Amostras de plântulas foram coletadas, para cada tratamento, em todas as repetições. Essas foram devidamente embaladas, enviadas ao laboratório e conservadas em geladeira ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) até sua análise. Para isso, as plântulas foram lavadas em água corrente para a retirada de restos de substrato aderido às raízes. Em seguida, a parte aérea foi descartada e o restante, contendo a parte radicular e a região do colo, foi lavado novamente, primeiramente com uma solução de álcool a 70% (v/v) por 1 min e depois em uma solução de hipoclorito a 3% (v/v) por mais um minuto (TANAKA, 1987) e, em seguida, transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura BDA suplementado com 4,0 mg de estreptomicina (concentração de 70%)/100 mL (p/v) de meio. Em cada placa foram colocadas dez plântulas e cada amostra foi composta por três placas, totalizando trinta plântulas. As placas foram mantidas em câmara de crescimento por seis dias a  $24^{\circ}\text{C}$ , com fotoperíodo de 12 horas e, após esse período, foram identificados e quantificados os fungos presentes, em nível de gênero, pelas observações das placas diretamente no microscópio estereoscópico e com confecção de lâminas para observação em microscópio óptico, com base na bibliografia especializada (BARNETT e HUNTER, 1999; LUZ et al., 2001).

#### 3.4.4 Avaliação do crescimento e sanidade das plântulas

Três meses depois da semeadura, no período em que maioria das sementes estava germinada, foram verificadas a densidade de plântulas emergidas e a altura média a partir do colo, com auxílio de uma régua.

Durante todo o período de emergência das plântulas, até o momento de repicagem para os recipientes, foi verificada, através de observações semanais, a presença de mudas mortas, na forma de reboleiras e/ou espalhadas pela sementeira. A severidade foi quantificada pela medição da área (reboleira) de mudas mortas, e os dados foram expressos em porcentagem.

#### 3.4.5 Procedimento estatístico

Para os valores referentes às variáveis comunidade fúngica do solo, altura e densidade de plântulas, os dados foram transformados para  $\sqrt{x+2}$ . Em seguida, foi realizada a análise da variância e, nos casos de significância estatística, foi efetuado a de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para estas análises utilizou-se software estatístico SASM-Agri 3.2.4 (ALTHAUS et al., 2001).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em ervais

#### 4.1.1 Localização e características das propriedades amostradas

As características (variáveis) de cada erval amostrado, de acordo com as respostas obtidas na aplicação do questionário, são as seguintes:

A) Idade do erval: A representação gráfica da idade dos ervais amostrados encontra-se na Figura 3A. Os valores foram organizados em intervalos de classes de oito em oito anos. Observa-se que a maior parte dos ervais está com idades entre 1-8 (32%) e 9-16 (48%), indicando que a maioria são ervais jovens, que recém chegaram ao pico de produção.

B) Tipo de adubação aplicada: 1 – NPK (várias formulações); 2 – nitrato de cálcio; 3 – NPK + nitrato de cálcio; 4 – esterco avícola; 5 – NPK + uréia; 6 – Não faz adubação; 7 – NPK + nitrato de cálcio + esterco avícola; 8 – nitrato de cálcio + esterco de aviário; 9 – NPK + nitrato de cálcio + esterco suíno; 10 – NPK + nitrato de cálcio + uréia; 11 - adubo orgânico comercial. Na Figura 3B observa-se a porcentagem de propriedades que utilizam cada tipo de adubação. A maior parte dos ervais (32%) é adubada com NPK + nitrato de cálcio e, em segundo lugar, com esterco avícola (16%). Nota-se que há uma variabilidade grande no tipo de adubação utilizada, porém, se observarmos o número de propriedades que utilizam nitrato de cálcio em sua composição, somam 56% do total.

C) Espaçamento de plantio: os espaçamentos de plantio variaram de 2,2 m<sup>2</sup> até 6,3 m<sup>2</sup>/planta. Porém, a maior parte dos ervais (52%) são cultivados com espaçamento de 2,0 x 1,5 m, o que corresponde a 3 m<sup>2</sup>/planta.

D) Tipo de controle de plantas daninhas (inço): 1 – com aplicação de herbicida (Roundup<sup>®</sup>) em 88% dos ervais; e 2 – com roçada, apenas 12%.

E) Intensidade de poda: 1 – três vezes ao ano; 2 – uma vez ao ano; 3 – duas vezes ao ano; 4 – uma vez a cada dois anos; 5 – nunca foi podado. A representação gráfica da porcentagem das propriedades que utilizam cada tipo de adubação é observada na Figura 3C. A maior parte dos produtores (48%) podam os ervais 3 vezes ao ano. É importante ressaltar

que a intensidade de poda é uma variável que oscila bastante em função do preço pago pelo produto e pela demanda por parte da indústria ervateira.

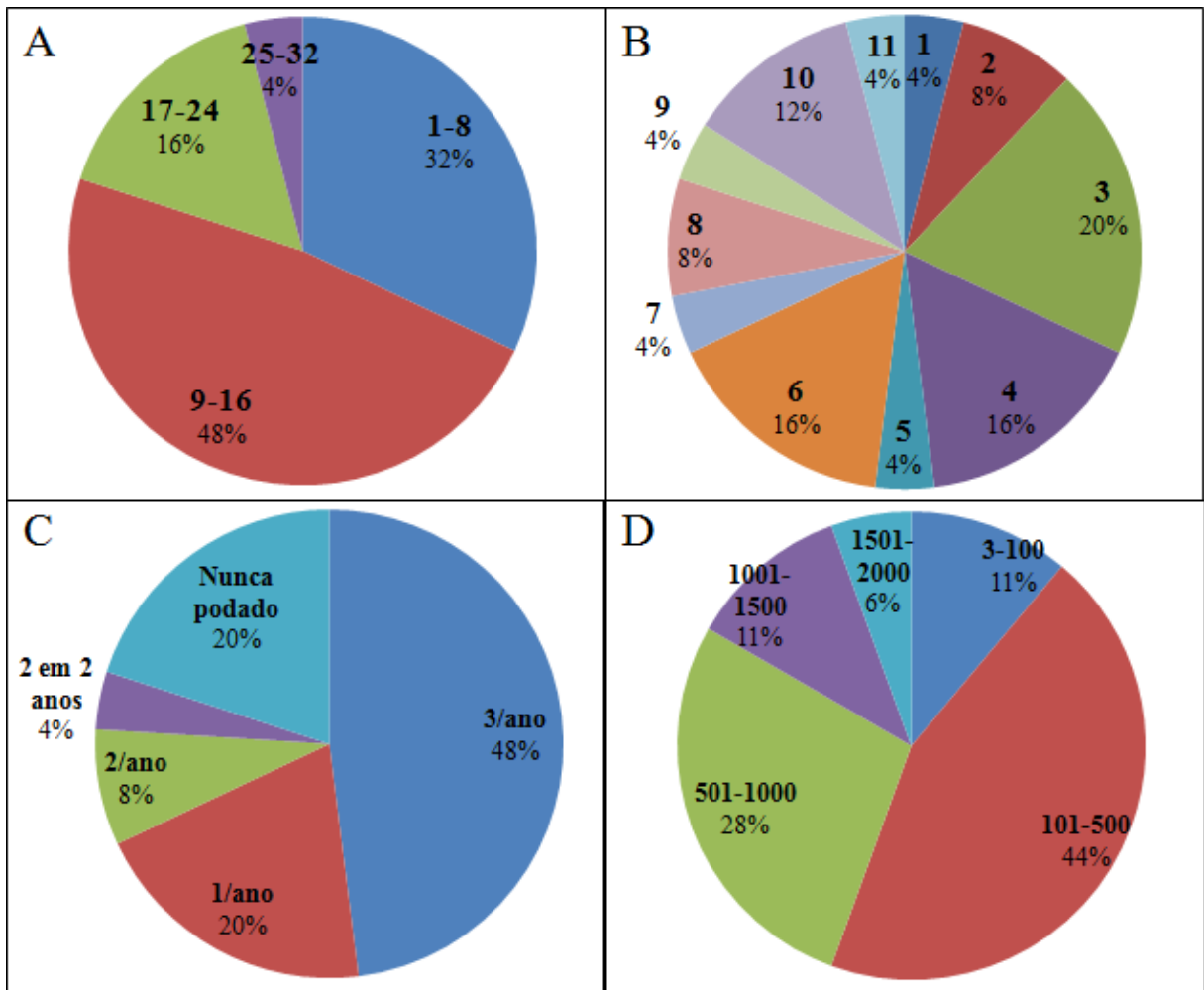
F) Época da principal poda: 1 – durante o inverno é realizada em 20% dos ervais; 2 – durante a primavera (8%); 3 – durante o verão (4%); 4 – durante o outono (12%); 5 – sem época definida (36%); 6 – nunca foram podados (20%). Esta também é uma variável que pode variar em função do preço pago pelo produto e pela demanda da indústria ervateira.

G) Se o erval é ou foi consorciado com alguma cultura agrícola: 1 – nunca foi (28% dos ervais); 2 – sempre foi (32%); 3 – algum ano (40%).

#### 4.1.2 Severidade da doença

Na Figura 3D são apresentados os valores da severidade da podridão-de-raízes nos diferentes ervais amostrados, organizados em intervalos de classes (10-100; 101-500; 501-100; 1001-1500; 1501-2000) para facilitar a visualização. A maior porcentagem de propriedades (44%) está localizada na classe 101-500, seguida pela classe 501-1000 com 28%, mostrando, com isso, que há uma alta severidade da doença.

Quanto à severidade da doença, inicialmente colocada como variável principal, não foi possível obter normalidade dos dados, então, esta foi substituída pela variável população de *Fusarium* do solo. Segundo Maffia e Mizubuti (2005), a quantificação da doença para a maioria dos trabalhos que envolvem patógenos radiculares é crucial, principalmente em estudos epidemiológicos, porém, a correta quantificação requer acurácia do avaliador, pois, frequentemente os sintomas apresentados pela doença podem ser confundidos com sintomas de outra causa, não objeto do estudo, como outra doença ou fatores abióticos. Além disso, necessita de boa representatividade e homogeneidade de amostras, o que, a campo nem sempre é conseguido, em função da variabilidade de ambientes e da grande necessidade de alocação de recursos financeiros. Neste caso, segundo os autores, a severidade da doença é comumente representada pela quantificação do inóculo do patógeno, já que as chances de infecção de plantas por patógenos do sistema radicular relacionam-se à quantidade de inóculo disponível.



**Figura 3:** Gráficos das principais características dos ervais. A = Tipo de adubação; B = Idade dos ervais (anos); C = Intensidade da poda; D = Severidade da podridão-de-raízes conforme a equação do item 3.1.3.

4.1.3 Relação de causa e efeito das características de manejo e cultivo dos ervais, características químicas e população de fungos do solo sobre a população de *Fusarium* do solo

A partir das características (variáveis) avaliadas em cada propriedade amostrada, foram elaboradas três matrizes, conforme descrito abaixo.

A primeira matriz foi composta pela população de *Fusarium* (Fus) presente no solo (variável principal) e as variáveis consideradas explicativas (secundárias) são as seguintes características de manejo e cultivo: idade do erval (ID), tipo de adubação aplicada (TA), espaçamento de plantio (ES), tipo de controle de plantas daninhas (inço) (CI), intensidade de

poda (IP), época da principal poda (EP) e se o erval é ou foi consorciado com alguma cultura agrícola (CO). Os dados numéricos (quantitativos) foram aplicados diretamente, enquanto que para os dados qualitativos foram atribuídos valores (1, 2, 3,..., n, item 4.1.1). As variáveis que não apresentaram normalidade dos dados foram transformadas para: ID =  $\sqrt{(x+3/4)}$ ; TA =  $\sqrt{x}$ . As variáveis ES, CI, IP, EP, e CO foram excluídas por falta de normalidade dos dados.

A segunda matriz foi composta pela população de *Fusarium* (Fus) presente no solo (variável principal) e como variáveis explicativas (secundárias) as populações de *Rhizoctonia* (Ris), *Trichoderma* (Tri), soma das populações de todos os gêneros fúngicos presentes (Tot) e número total de gêneros fúngicos (N°G). Para estas variáveis, os dados foram transformados para: Tri =  $\sqrt{x}$ , Tot =  $\log(x+2)$  e N°G =  $\arcsen\sqrt{((x+3/8)/(n+3/4))}$ . A variável Ris foi excluída por falta de normalidade dos dados.

A terceira matriz foi composta pela população de *Fusarium* (Fus) presente no solo (variável principal) e as variáveis consideradas explicativas (secundárias) foram as principais características químicas do solo: potencial de hidrogênio (pH), fósforo (P); potássio (K), matéria orgânica (MO), cálcio (Ca), magnésio (Mg), capacidade de troca de cátions (CTC) e saturação por bases (V). As variáveis que não apresentaram normalidade dos dados foram transformadas para: pH =  $1/x$ ; P, K, MO, Ca, Mg e V =  $\ln(x)$ ; e a CTC =  $\log(x/(1+x))$ . A variável saturação por alumínio (m) foi excluída por falta de normalidade dos dados.

Dados ambientais, por serem observações de campo, geralmente apresentam grande variabilidade e coeficiente de variação alto (CARVALHO et al., 2004). Nas Tabelas 2 e 3 pode-se observar a média, o valor mínimo e máximo e o coeficiente de variação (CV) para as variáveis (características químicas e população de fungos do solo) estudadas.

**Tabela 2** – Valores médios, mínimos e máximos e coeficientes de variação (CV) para as variáveis (população de fungos do solo) amostradas nas propriedades.

| Variável   | Média | Mínimo | Máximo | CV    |
|------------|-------|--------|--------|-------|
| <b>Fus</b> | 3,5   | 0,0    | 7,7    | 64,1  |
| <b>Rhi</b> | 0,2   | 0,0    | 1,0    | 119,5 |
| <b>Tri</b> | 1,0   | 0,0    | 4,3    | 97,3  |
| <b>Tot</b> | 17,2  | 8,3    | 31,7   | 41,4  |
| <b>N°G</b> | 8,0   | 4,0    | 12,0   | 27,0  |

Onde: **Fus** = população de *Fusarium*, **Rhi** = população de *Rhizoctonia*, **Tri** = população de *Trichoderma*, **Tot** = população de todos os fungos presentes (UFC mg<sup>-1</sup> de substrato); **N°G** = número de gêneros fúngicos presentes.

A grande variabilidade dos dados, evidenciada pelos valores mínimos e máximos (Tabelas 2 e 3) é função da diversidade de situações observadas em campo, sendo



consequência dos diferentes tipos de solo e características de uso e manejo, resultando em coeficientes de variação altos.

**Tabela 3** – Valores médios, mínimos e máximos e coeficientes de variação (CV) para as variáveis (características químicas do solo) amostradas nas propriedades.

| Variável                         | Média | Mínimo | Máximo | CV (%) |
|----------------------------------|-------|--------|--------|--------|
| <b>Fus</b>                       | 3,5   | 0,00   | 7,7    | 64,6   |
| <b>pH</b> (H <sub>2</sub> O)     | 5,0   | 4,3    | 6,3    | 11,1   |
| <b>P</b> (mg/L)                  | 19,3  | 2,20   | 76,0   | 118,5  |
| <b>K</b> (mg/L)                  | 184,0 | 80,0   | 388,0  | 41,0   |
| <b>MO</b> (%)                    | 4,5   | 2,5    | 7,4    | 30,0   |
| <b>Ca</b> (cmol <sub>c</sub> /L) | 4,4   | 1,2    | 13,7   | 71,9   |
| <b>Mg</b> (cmol <sub>c</sub> /L) | 0,7   | 0,1    | 3,0    | 108,3  |
| <b>CTC</b> <sub>pH7</sub>        | 16,60 | 5,7    | 82,8   | 64,1   |
| <b>V</b> (%)                     | 38,62 | 5,7    | 82,8   | 64,1   |

Onde: **Fus** = População de *Fusarium* em UFC mg<sup>-1</sup> de substrato; **pH** = potencial de hidrogênio; **P** = Fósforo; **K** = Potássio; **MO** = matéria orgânica; **Ca** = Cálcio; **Mg** = magnésio; **CTC** = Capacidade de troca de cátions; **V** = Saturação por bases; **CV** = Coeficiente de variação.

As estimativas das correlações de Pearson entre a população de *Fusarium* (**Fus**) e as características de manejo e cultivo dos ervais (ID e TA) (Tabela 4), apresentaram apenas um indicativo de correlação significativa a 5% de probabilidade de erro. Porém, como a correlação existente ocorreu entre as variáveis explicativas ID e TA, e não sobre a variável principal, não houve a necessidade do desdobramento das correlações em efeitos diretos e indiretos da análise de trilha, mostrando, assim, que estas duas variáveis não têm qualquer relação com a população de *Fusarium* do solo.

**Tabela 4** - Estimativas das correlações de Pearson entre a população de *Fusarium* em UFC mg<sup>-1</sup> de substrato (**Fus**) e características de manejo e cultivo dos ervais: **ID** = idade do erval e **TA** = tipo de adubação.

|            | <b>Fus</b> | <b>ID</b> | <b>TA</b> |
|------------|------------|-----------|-----------|
| <b>Fus</b> | 1          |           |           |
| <b>ID</b>  | 0,1763     | 1         |           |
| <b>TA</b>  | 0,1719     | 0,9997*   | 1         |

\* Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro. n = 25 observações.

As estimativas das correlações de Pearson entre a população de *Fusarium* (**Fus**) e características biológicas do solo (Rhi, Tri, Tot e N°G) apresentaram correlação significativa (Tabela 5). Como os coeficientes de correlação não informam a respeito das verdadeiras relações de causa e efeito entre as variáveis explicativas e a principal, procedeu-se a análise de trilha.

**Tabela 5** - Estimativas das correlações de Pearson entre a população de *Fusarium* em UFC mg<sup>-1</sup> de substrato (**Fus**) e características biológicas do solo: **Tri** = população de *Trichoderma*, **Tot** = população de todos os fungos presentes (UFC mg<sup>-1</sup> de substrato); **N°G** = número de gêneros fúngicos presentes.

|            | <b>Fus</b> | <b>Tri</b> | <b>Tot</b> | <b>N°G</b> |
|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Fus</b> | 1          |            |            |            |
| <b>Tri</b> | 0,3641     | 1          |            |            |
| <b>Tot</b> | 0,5923*    | 0,2004     | 1          |            |
| <b>N°G</b> | 0,1454     | 0,1236     | 0,4457*    | 1          |

\* Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro. n = 25 observações.

As estimativas das correlações de Pearson entre a população de *Fusarium* (**Fus**) e características químicas do solo (pH, P, K, MO, Ca, Mg e V) apresentaram correlação significativa (Tabela 6), então, procedeu-se análise de trilha (Tabela 8) para verificação das relações de causa e efeito entre as variáveis explicativas e a principal.

**Tabela 6** - Estimativas das correlações de Pearson entre a população de *Fusarium* em UFC mg<sup>-1</sup> de substrato (**Fus**) e características químicas do solo: **pH** = potencial de hidrogênio; **P** = Fósforo; **K** = Potássio; **MO** = matéria orgânica; **Ca** = Cálcio; **Mg** = Magnésio; e **V** = Saturação por bases.

|            | <b>Fus</b> | <b>pH</b> | <b>P</b> | <b>K</b> | <b>MO</b> | <b>Ca</b> | <b>Mg</b> | <b>V</b> |
|------------|------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| <b>Fus</b> | 1          |           |          |          |           |           |           |          |
| <b>pH</b>  | 0,3007     | 1         |          |          |           |           |           |          |
| <b>P</b>   | 0,4497*    | 0,1540    | 1        |          |           |           |           |          |
| <b>K</b>   | -0,0109    | -0,7030*  | 0,0956   | 1        |           |           |           |          |
| <b>MO</b>  | 0,5677*    | 0,5708*   | 0,2118   | -0,2701  | 1         |           |           |          |
| <b>Ca</b>  | -0,2996    | -0,8350*  | -0,0113  | 0,7649*  | -0,3811   | 1         |           |          |
| <b>Mg</b>  | -0,0835    | -0,7187*  | 0,1892   | 0,7880*  | -0,2996   | 0,8559*   | 1         |          |
| <b>V</b>   | -0,2185    | -0,7286*  | 0,1722   | 0,6838*  | -0,4396*  | 0,8092*   | 0,7001*   | 1        |

\* Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro. n = 25 observações.

Para que a avaliação da associação entre caracteres tenha uma estimativa segura e gere uma interpretação biologicamente apropriada, é fundamental que seja avaliado o grau de colinearidade entre as variáveis independentes. Entre os efeitos de uma elevada multicolinearidade, podem ser citados: as estimativas instáveis do coeficiente de regressão e uma superestimativa dos efeitos diretos das variáveis explicativas sobre a principal, que podem levar a resultados equivocados (CRUZ e CARNEIRO, 2003).

Na matriz de correlações das variáveis explicativas (Tabela 3), fez-se necessário a eliminação da variável  $CTC_{pH7}$ , para obtenção de colinearidade fraca. Os resultados do diagnóstico de multicolinearidade revelaram que os caracteres das características químicas (pH, P, K, MO, Ca, Mg e V) e biológicas (Rhi, Tri, Tot e N°G) do solo, bem como, os de

manejo e cultivo dos ervais, apresentaram multicolinearidade fraca, não ocasionando maiores dificuldades às análises de trilha.

As estimativas dos efeitos diretos das variáveis primárias sobre a variável população de *Fusarium* (Fus) evidenciaram que a variável Tot foi a que revelou o maior efeito direto sobre Fus (0,61), cuja estimativa foi superior ao coeficiente de correlação (0,59) (Tabela 7).

Observando a Tabela 7, que apresenta as estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson e respectivas estimativas dos efeitos diretos e indiretos das características biológicas do solo sobre a população de *Fusarium* (Fus), percebe-se que o coeficiente de determinação foi médio e que as variáveis (Rhi, Tri, Tot e N°G) explicam apenas 43,38% da variável principal (Fus). Das três variáveis explicativas, apenas a variável população total de fungos (Tot) apresentou correlação total de Pearson significativa e positiva, através de um efeito direto positivo de médio a alto.

**Tabela 7** - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson e respectivas estimativas dos efeitos diretos e indiretos de **Tri** = população de *Trichoderma*, **Tot** = população de todos os fungos presentes (UFC mg<sup>-1</sup> de substrato) e **N°G** = número de gêneros fúngicos presentes sobre a população de *Fusarium* em UFC mg<sup>-1</sup> de substrato (**Fus**).

| Variável                    | Vias de associação             | Coeficientes de trilha |                 | Coeficiente de correlação |
|-----------------------------|--------------------------------|------------------------|-----------------|---------------------------|
|                             |                                | Efeito direto          | Efeito indireto |                           |
| <b>Tri</b>                  | Efeito direto sobre <b>Fus</b> | 0,2613                 |                 | 0,3641                    |
|                             | Efeito indireto via <b>Tot</b> |                        | 0,1224          |                           |
|                             | Efeito indireto via <b>N°G</b> |                        | -0,0197         |                           |
|                             | Total                          |                        |                 |                           |
| <b>Tot</b>                  | Efeito direto sobre <b>Fus</b> | 0,6109                 |                 | 0,5923*                   |
|                             | Efeito indireto via <b>Tri</b> |                        | 0,0524          |                           |
|                             | Efeito indireto via <b>N°G</b> |                        | -0,0710         |                           |
|                             | Total                          |                        |                 |                           |
| <b>N°G</b>                  | Efeito direto sobre <b>Fus</b> | -0,1592                |                 | 0,1454                    |
|                             | Efeito indireto via <b>Tri</b> |                        | 0,0323          |                           |
|                             | Efeito indireto via <b>Tot</b> |                        | 0,2723          |                           |
|                             | Total                          |                        |                 |                           |
| Coeficiente de determinação |                                | 0,4338                 |                 |                           |
| Efeito da variável residual |                                | 0,7524                 |                 |                           |

\* Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro. n = 25 observações.

Esta correlação entre a variável principal (Fus) e a variável explicativa população total de fungos do solo (Tot) é, de certa forma, lógica. Segundo Melloni (2007) a população de microrganismos do solo é um dos indicadores de sua qualidade, então, sua população será maior de acordo com sua qualidade. Como o *Fusarium* é um habitante natural do solo, é compreensível que sua população aumente, juntamente com as demais, em solos de boa qualidade. Nesse caso, nem sempre um aumento da população do patógeno é condicionante

de maior severidade da doença. Poletto et al. (2009) verificaram, em um experimento realizado em viveiro, que a população de *Fusarium* spp. e a população total de fungos foram, consideravelmente, maiores no substrato de mudas de erva-mate submetidas a maiores níveis de sombreamento, quando comparadas às submetidas aos menores níveis ou à pleno sol. No entanto, a severidade da podridão-de-raízes causada por *Fusarium* spp. foi menor ou inexistente nos maiores níveis de sombreamento. Esse resultado foi atribuído à boa condição ambiental em que as mudas estavam, sem sofrerem com fatores de estresse. Nesse caso, o excesso de sol aumentaria a temperatura do solo.

O solo é um ambiente extremamente complexo, onde existem inúmeras interações químicas e biológicas, por isso, a interpretação e a constatação de quais dessas interações, como por exemplo, atividades antagônicas entre populações de diferentes espécies de fungos, podem estar influenciando no patossistema, se torna uma tarefa árdua. A constatação, principalmente nos últimos anos, de interações entre organismos do mesmo gênero competindo por espaço e nutrientes, evidencia essa complexidade.

Para Cardoso Filho e Minhoni (2007), a competição por carbono, nitrogênio e ferro pode ser mostrada como um mecanismo associado com o biocontrole ou supressão de espécies de *Fusarium* por espécies de *Fusarium* não patogênicas e *Trichoderma*. Inúmeros estudos mostram que existe uma relação entre o aumento da colonização da rizosfera por fungos não patogênicos e a supressão de doenças radiculares. Já está bem estabelecido na literatura que formas não patogênicas de *Fusarium oxysporum* controlam formas patogênicas de *F. oxysporum* em uma variedade de culturas (MANDEEL e BAKER, 1991).

A comunidade microbiana presente nos diversos solos atua de modo direto e/ou indireto no controle de fitopatógenos, relacionados principalmente aos causadores de podridões de sementes, raízes e colo de plantas. A agricultura sustentável depende da atividade de diversos grupos microbianos e de suas funções no solo, o que condiciona a dinâmica e o equilíbrio do sistema (CARDOSO FILHO e MINHONI, 2007).

Na Tabela 8, que apresenta as estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson e respectivas estimativas dos efeitos diretos e indiretos das características químicas do solo sobre a população de *Fusarium* (Fus), verifica-se que o coeficiente de determinação foi médio e que as variáveis (pH, P, K, MO, Ca, Mg e V) explicam 56,13% da variável principal Fus.

**Tabela 8** - Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson e respectivas estimativas dos efeitos diretos e indiretos do **pH** = potencial de hidrogênio; **P** = Fósforo; **K** = Potássio; **MO** = matéria orgânica; **Ca** = Cálcio; **Mg** = magnésio; **V** = Saturação por bases sobre a população de *Fusarium* em UFC mg<sup>-1</sup> de substrato (**Fus**).

| Variável  | Vias de associação      | Coeficientes de trilha |                 | Coeficiente de correlação |
|-----------|-------------------------|------------------------|-----------------|---------------------------|
|           |                         | Efeito direto          | Efeito indireto |                           |
| <b>pH</b> | Efeito direto sobre Fus | -0,3791                |                 |                           |
|           | Efeito indireto via P   |                        | 0,4858          |                           |
|           | Efeito indireto via K   |                        | -0,2068         |                           |
|           | Efeito indireto via MO  |                        | 0,3151          |                           |
|           | Efeito indireto via Ca  |                        | 0,6693          |                           |
|           | Efeito indireto via Mg  |                        | -0,1472         |                           |
|           | Efeito indireto via V   |                        | 0,0008          |                           |
|           | Total                   |                        |                 | 0,3007                    |
| <b>P</b>  | Efeito direto sobre Fus | 0,3154                 |                 |                           |
|           | Efeito indireto via pH  |                        | -0,0584         |                           |
|           | Efeito indireto via K   |                        | 0,0281          |                           |
|           | Efeito indireto via MO  |                        | 0,1169          |                           |
|           | Efeito indireto via Ca  |                        | 0,0090          |                           |
|           | Efeito indireto via Mg  |                        | 0,0387          |                           |
|           | Efeito indireto via V   |                        | -0,0002         |                           |
|           | Total                   |                        |                 | 0,4497*                   |
| <b>K</b>  | Efeito direto sobre Fus | 0,2942                 |                 |                           |
|           | Efeito indireto via pH  |                        | 0,2665          |                           |
|           | Efeito indireto via P   |                        | 0,0301          |                           |
|           | Efeito indireto via MO  |                        | -0,1491         |                           |
|           | Efeito indireto via Ca  |                        | -0,6131         |                           |
|           | Efeito indireto via Mg  |                        | 0,1614          |                           |
|           | Efeito indireto via V   |                        | -0,0007         |                           |
|           | Total                   |                        |                 | -0,0108                   |
| <b>MO</b> | Efeito direto sobre Fus | 0,5521                 |                 |                           |
|           | Efeito indireto via pH  |                        | -0,2164         |                           |
|           | Efeito indireto via P   |                        | 0,0668          |                           |
|           | Efeito indireto via K   |                        | -0,0795         |                           |
|           | Efeito indireto via Ca  |                        | 0,3055          |                           |
|           | Efeito indireto via Mg  |                        | -0,0613         |                           |
|           | Efeito indireto via V   |                        | 0,0005          |                           |
|           | Total                   |                        |                 | 0,5677*                   |
| <b>Ca</b> | Efeito direto sobre Fus | -0,8015                |                 |                           |
|           | Efeito indireto via pH  |                        | 0,3165          |                           |
|           | Efeito indireto via P   |                        | -0,0036         |                           |
|           | Efeito indireto via K   |                        | 0,2250          |                           |
|           | Efeito indireto via MO  |                        | -0,2104         |                           |
|           | Efeito indireto via Mg  |                        | 0,1753          |                           |
|           | Efeito indireto via V   |                        | -0,0009         |                           |
|           | Total                   |                        |                 | -0,2996                   |

Continuação...

|                             |                         |         | Continuação... |
|-----------------------------|-------------------------|---------|----------------|
| <b>Mg</b>                   | Efeito direto sobre Fus | 0,2048  |                |
|                             | Efeito indireto via pH  |         | 0,2724         |
|                             | Efeito indireto via P   |         | 0,0597         |
|                             | Efeito indireto via K   |         | 0,2318         |
|                             | Efeito indireto via MO  |         | -0,1654        |
|                             | Efeito indireto via Ca  |         | -0,6860        |
|                             | Efeito indireto via V   |         | -0,0007        |
|                             | Total                   |         | -0,0835        |
| <b>V</b>                    | Efeito direto sobre Fus | -0,0011 |                |
|                             | Efeito indireto via P   |         | 0,2750         |
|                             | Efeito indireto via K   |         | 0,0543         |
|                             | Efeito indireto via MO  |         | 0,2012         |
|                             | Efeito indireto via Ca  |         | -0,2427        |
|                             | Efeito indireto via Mg  |         | -0,6486        |
|                             | Efeito indireto via V   |         | 0,1434         |
|                             | Total                   |         | -0,2185        |
| Coeficiente de determinação |                         | 0,5613  |                |
| Efeito da variável residual |                         | 0,6623  |                |

\* Significativo pelo teste t em nível de 5% de probabilidade de erro. n = 25 observações.

Das sete variáveis explicativas apenas fósforo (P) e matéria orgânica (MO) apresentaram correlação total de Pearson significativa (Tabela 8). A variável P apresentou uma correlação positiva média (0,45), explicada principalmente por um efeito direto também positivo. No entanto essa significância não é suficiente para afirmar que o P exerce um efeito positivo sobre a população de *Fusarium* (Fus). Nos cultivos agrícolas, o fósforo é relatado, principalmente, influenciando diretamente a planta e não o patógeno. Para Prabhu et al. (2007a), quando aplicado no solo, o P pode afetar diretamente os patógenos de solo, como também seus hospedeiros, mas em doenças causadas por patógenos transmitidos pelo ar, é mais provável que o P afete a infecção, provocando mudanças nos mecanismos de defesa das plantas.

Prabhu et al. (2007a) exemplificam o efeito do fósforo em alguns patossistemas. A severidade da podridão-radicular em citrus, por exemplo, causada por *Thielaviopsis basicola*, é aumentada com o suprimento do nutriente; já para o tabaco, o ataque de *T. basicola* é diminuído. A podridão-radicular em pinus, causada por *Polyporus schwinitzii* é menos severa com o suprimento de P. O “damping-off” de mudas de coníferas causado por *Fusarium oxysporum* é diminuído com o suprimento desse nutriente.

Estudos com a fusariose-do-tomateiro (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) mostraram que elevados níveis de fósforo aumentaram a severidade da murcha e que a combinação de calagem elevada com baixo teor de fósforo no solo reduziu a severidade da

doença. Aplicações de superfosfato, acima do requerido para o crescimento do tomateiro, aumentaram a ocorrência da murcha em pH 6,0. Em pH 7,0 ou 7,5, não houve aumento da doença, já que em pH elevado a disponibilidade de fósforo é reduzida. Estudos envolvendo o mal-do-panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) em bananeira, mostraram que a aplicação de altos níveis de fósforo no solo podem afetar a absorção de zinco pela planta e, de forma indireta, interferir nos mecanismos de resistência da planta ao patógeno (ZAMBOLIM et al., 2001).

A variável explicativa MO se correlacionou positivamente com a variável principal Fus, explicada por um efeito direto médio (0,57) (Tabela 8). A MO exerce influência sobre a população de *Fusarium* (Fus) como condicionante do solo, melhorando suas condições e proporcionando, dessa forma, o aumento da comunidade microbiana geral e, não só sobre a população de *Fusarium*.

Segundo Ricci (2010), a matéria orgânica do solo (MOS) tem efeito direto sobre as características físicas, químicas e biológicas deste, sendo considerada uma peça fundamental para a manutenção da capacidade produtiva dos solos em qualquer ecossistema terrestre. Do ponto de vista físico, a MOS melhora a estrutura do solo, reduz a plasticidade e a coesão, aumenta a capacidade de retenção de água e a aeração, permitindo maior penetração e distribuição das raízes. A MOS atua diretamente sobre a fertilidade do solo por constituir a principal fonte de macro e micronutrientes essenciais às plantas, além de atuar indiretamente, através da disponibilidade dos nutrientes, além de aumentar a capacidade de retenção dos nutrientes, evitando suas perdas. Biologicamente, a MOS aumenta a atividade da biota do solo (organismos presentes), sendo fonte de energia e de nutrientes para a mesma (ADL, 2003; VEZZANI et al., 2008).

Segundo Bailey e Lazarovits (2003), a matéria orgânica exerce forte influência sobre os fungos do solo, provocando aumento ou diminuição da população, dependendo do tipo de sistema. Porém, na maioria das vezes, as modificações nas populações de patógenos estão ligadas às correlações existentes entre estes, e o tipo e a quantidade de nutrientes por ela disponibilizados. Os mesmos autores, citando Cook (1986), argumentam que grandes colheitas por um longo período de tempo, estão associadas à sanidade do sistema radicular das plantas e, para várias culturas, esta sanidade está diretamente ligada ao uso de fontes orgânicas de adubos, melhorando, com isso, a estrutura do solo e reduzindo os impactos negativos provocados por patógenos de solo.

Davis et al. (2001) examinaram 100 plantações comerciais de batatas quanto às características do solo, intensidade de doenças e produção. Eles observaram que os fatores

que mais fortemente estavam correlacionados foram os da integridade do solo (a matéria orgânica, o nitrogênio orgânico e o aumento da disponibilidade de nutrientes) e estes estavam, diretamente, relacionados à redução de doenças e ao aumento da produtividade.

Para a variável explicativa Ca, o coeficiente de correlação de Pearson não foi significativo (-0,30), porém, esta variável apresentou um efeito direto negativo sobre Fus de -0,80. O baixo valor do coeficiente de correlação, neste caso, pode ser atribuído ao efeito indireto positivo exercido pelas variáveis pH, K e Mg, anulando, assim, o efeito direto do Ca sobre Fus.

## **4.2 Aspectos epidemiológicos da podridão-de-raízes da erva-mate em viveiros**

### **4.2.1 Características gerais dos viveiros**

Foi observado que os viveiros onde foram realizados os estudos são pequenos, produzem entre 20.000 a 100.000 mudas por ano, utilizam mão-de-obra familiar e empregam pouca tecnologia.

Como substrato, os viveiristas utilizam solo coletado em meio à mata nativa, margens de rios ou em locais que possuem, segundo eles, solo fértil, com alta porcentagem de matéria orgânica. Na irrigação do viveiro é utilizada água de poço artesiano. As embalagens utilizadas para acondicionar o substrato e as mudas são sacos plásticos pretos com tamanho médio de 12 x 8 cm, estas, são mantidas em canteiros diretamente sobre o solo. Para sombreamento das mudas é utilizado sombrite com diferentes porcentagens de permeabilidade de luz ou então, palmas de coqueiro. As mudas são comercializadas quando apresentam cerca de 20 cm de altura, medidas a partir do colo, o que ocorre, geralmente, nos meses de maio, junho e julho.



#### 4.2.2 Características químicas do substrato utilizado nos viveiros

Os dados referentes à análise química do substrato, utilizado nos viveiros produtores de mudas de erva-mate na Região do Vale do Taquari - RS, são apresentados na Tabela 9. Observa-se que há uma desuniformidade das características do substrato, comprovado pelos altos valores de Coeficiente de Variação (CV).

**Tabela 9** – Análise química do solo utilizado como substrato em viveiros de produção de mudas de erva-mate.

| Vivei-<br>ro | MO   | Argila | pH               | Índice | P*                  | K*   | Al                                 | Ca   | Mg   | CTC               | V    | m   |
|--------------|------|--------|------------------|--------|---------------------|------|------------------------------------|------|------|-------------------|------|-----|
|              | %    |        | H <sub>2</sub> O | SMP    | mg dm <sup>-3</sup> |      | cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> |      |      | pH <sub>7,0</sub> | %    |     |
| AC           | 4,6  | 10     | 6,0              | 7,0    | 4,5                 | 164  | 0,0                                | 17,1 | 3,2  | 22,1              | 94,0 | 0,0 |
| SP           | 2,8  | 13     | 4,9              | 6,4    | 10,9                | 220  | 0,1                                | 11,2 | 3,1  | 17,7              | 84,0 | 1,0 |
| MG           | 0,8  | 8      | 5,9              | 6,6    | 7,6                 | 244  | 0,0                                | 8,8  | 3,0  | 14,6              | 85,0 | 0,0 |
| AM           | 3,1  | 8      | 5,9              | 6,9    | 12,6                | 300  | 0,0                                | 10,9 | 3,5  | 16,8              | 90,0 | 0,0 |
| AR           | 6,0  | 16     | 5,9              | 6,8    | 13,5                | 332  | 0,0                                | 15,8 | 4,1  | 22,4              | 93,0 | 0,0 |
| DC           | 3,8  | 32     | 6,2              | 6,5    | 76,0                | 600  | 0,0                                | 7,9  | 1,4  | 13,3              | 82,0 | 0,0 |
| AF           | 4,9  | 8      | 7,7              | 7,3    | 76,0                | 800  | 0,0                                | 7,6  | 3,8  | 14,4              | 93,0 | 0,0 |
| CV           | 45,5 | 63,9   | 13,7             | -      | 112,9               | 61,2 | -                                  | 33,3 | 27,5 | 21,2              | 5,6  | -   |

Em que: **MO** = Matéria Orgânica; **m** = Saturação por Alumínio; **V** = Saturação por bases; \* = Extrator Mehlich I, **CV** = Coeficiente de Variação (%).

Interpretando os resultados obtidos na Tabela 9, de acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do RS e SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004), o substrato apresentou as características que serão descritas a seguir:

A matéria orgânica presente no substrato do viveiro MG foi considerada “baixa”, nos viveiros AC, SP, AM, DC, “média” no AF e “alta” no viveiro AR. Segundo Silva et al. (2004), juntamente com os componentes inorgânicos da fase sólida (fração mineral), a matéria orgânica exerce um papel fundamental na química do solo, apresenta uma alta capacidade de interagir com outros componentes, alterando, assim, propriedades químicas, físicas e biológicas, as quais afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

A matéria orgânica tem acentuado efeito sobre a fertilidade do solo. É fonte de nutrientes para as plantas, sobretudo N, S e P, quando mineralizada pelos microrganismos. Como a matéria orgânica é a principal fonte de nitrogênio no solo, o seu teor é utilizado como um dos critérios de recomendação de adubação nitrogenada para as culturas nos estados de RS e SC. A matéria orgânica apresenta cargas elétricas de superfície e contribui para a

capacidade de troca de cátions (20 a 70% da CTC da maioria dos solos tropicais) (SILVA et al., 2004).

Tendo em vista que a capacidade de extração de P pelo método Mehlich I é baixa em solos que contêm alto teor de argila, a interpretação dos teores de P é realizada conforme o teor de argila. O teor de fósforo no substrato foi considerado “muito baixo” no viveiro AC, “baixo” nos viveiros SP, MG, AM e AR, e “muito alto” nos viveiros DC e AF.

A disponibilidade do P depende dos fatores que afetam seu movimento na solução do solo até a superfície das raízes, da capacidade do solo de manter P na solução e de outros fatores limitantes ao crescimento das plantas. O principal fator que afeta o movimento e a disponibilidade do P é o pH, conseqüentemente, em solos ácidos, esse elemento fica limitado. Recomenda-se, nesses casos, a utilização de calagem que proporciona o aumento da disponibilidade de P, em consequência da eliminação do alumínio trocável que causa toxidez para as plantas, do aumento da atividade microbiana que provoca maior mineralização do P orgânico e do aumento da concentração dos íons  $\text{OH}^-$  que podem deslocar o fósforo adsorvido na superfície dos minerais para a solução do solo. No entanto, não é apenas a acidez excessiva que limita a disponibilidade do P. Quando o pH do solo está alto, observa-se uma redução na disponibilidade do nutriente, ou seja, o P tem sua máxima disponibilidade dentro de uma faixa de pH considerada ideal para o elemento (ANGHINONI e BISSANI, 2004).

Ceconi et al. (2007), utilizando Argissolo Vermelho Amarelo como substrato para produção de mudas, observaram que doses entre 360 e 450  $\text{mg kg}^{-1}$  proporcionam um melhor desenvolvimento da erva-mate e, que, doses acima ou abaixo destas, além de proporcionar desenvolvimento insatisfatório, causa amarelecimento, manchas cloróticas e necróticas nas folhas. Os autores aplicaram ao substrato teores bem acima dos observados no substrato analisado no presente estudo. Tal efeito deve-se, principalmente, ao pH baixo (3,9) daquele substrato, que limita a disponibilidade do P às plantas.

De acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do RS e SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004), a disponibilidade do potássio é interpretada de acordo com a Capacidade de Troca de Cátions à pH 7,0 (CTC pH7,0), também chamada de CTC potencial. Solos com maior CTC retêm mais K na fase sólida, diminuindo as perdas por lixiviação, apresentam também, maior capacidade de manter alto o K na solução e, conseqüentemente, o gradiente de concentração (MEURER e INDA Jr., 2004). Os teores de K foram considerados “muito altos” em todos os viveiros.

Fatores físicos, químicos e biológicos do solo podem afetar a quantidade disponível de potássio a curto, médio e longo prazos. Dentre estes, pode-se destacar o material de origem

e grau de intemperização, a mineralogia, a CTC, a textura, o pH do solo e as características das plantas cultivadas. Quando o solo apresenta baixos teores de K, as plantas respondem significativamente à adubação potássica (MEURER e INDA Jr., 2004).

De acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do RS e SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004), para a erva-mate só é recomendado aplicar calcário como fonte de cálcio e magnésio quando os teores destes na análise do solo forem inferiores a 2,0 e 0,5 cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>, de Ca e Mg respectivamente. Os teores de Ca e Mg foram considerados “altos” em todos os viveiros. Os teores de Ca e Mg contribuem expressivamente na saturação de bases (V%), juntamente com o K. Os valores de V% foram “altos” em todos os viveiros. Quanto maiores os valores da saturação por bases melhor, pois esta é uma das condicionantes da produtividade do solo. Poletto (2008) observou que a aplicação de calcário ao substrato, como fonte de Ca e Mg, proporcionou efeito prejudicial ao desenvolvimento das mudas de erva-mate, mesmo com doses abaixo da recomendada para a espécie.

Como consequência dos altos valores de Ca e Mg, os teores de alumínio foram baixos. A saturação por alumínio (m%) foi considerada “muito baixa” ou nula em todos os viveiros. A saturação por Al nula é um dos principais fatores para se obter boas produtividades, pois as plantas não sofrerão restrições de crescimento por influência da toxidez desse elemento.

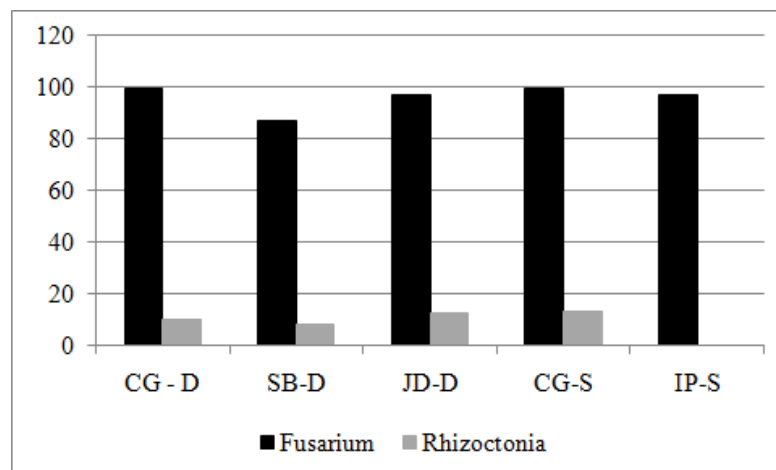
Os efeitos de toxidez de alumínio nas plantas podem ser observados principalmente no sistema radicular, reduzindo o desenvolvimento das raízes, causando engrossamento e necrose, que acabam por diminuir a absorção e translocação de fósforo pela planta. Esses distúrbios no sistema radicular das plantas prejudicam o desenvolvimento da parte aérea, que podem apresentar sintomas de deficiência de P. Devido à falha na sua translocação, as plantas não se desenvolvem, apresentam coloração amarelada e rendimento muito baixo (TEDESCO e BISSANI, 2004).

#### 4.2.3 Incidência de patógenos em flores, frutos, sementes, mudas e substrato

Na Figura 4 são apresentados os valores referentes à porcentagem de flores de erva-mate contaminadas por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* (Apêndice 6), coletadas em ervais saudáveis, e também, as coletadas em ervais que apresentavam sintomas de podridão-de-raízes. Observa-se que a incidência de *Fusarium* foi superior a 80% em todos os ervais,

independentemente de serem sadios ou doentes. Há também, uma pequena incidência, em torno de 15%, de *Rhizoctonia*.

Além de *Fusarium* e *Rhizoctonia*, foi constatada a presença dos seguintes gêneros fúngicos: *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Verticillium*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Bipolaris*, *Gonatobotrys*, *Arthrobotrys*, *Periconia* e *Aspergillus*. Embora alguns desses gêneros fúngicos serem sabidamente patogênicos para algumas culturas, não foi encontrado, na literatura, relato destes fungos causando moléstias na erva-mate, exceto para *Colletotrichum*, agente causal da pinta-preta e antracnose, responsáveis por sérios prejuízos em viveiro e ervais (GRIGOLETTI JUNIOR et al., 1996; GOMES et al., 2001).



**Figura 4** - Porcentagem de flores contaminadas com fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia*. As indicações CG, SB, JD, CG e IP referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos ervais e as letras após o hífen referem-se à condição do erval: sadio (S) ou doente (D).

Em vários patossistemas, as flores são a porta de entrada de muitos patógenos para infecções de frutos. No caso do patossistema *Botrytis cinerea* - kiwi, nos Estados Unidos e na Nova Zelândia, conídios do patógeno produzidos sobre frutos podres e folhas senescentes, durante o inverno e primavera chegam até as flores, disseminados pelo vento e insetos polinizadores. Durante o período de floração, pétalas e anteras são contaminadas e o patógeno passa a se desenvolver até atingir as sépalas e receptáculo. Como estão diretamente em contato com o fruto, acabam contaminando-o e provocando seu apodrecimento pré e pós-colheita. Tal processo é considerado o principal meio de contaminação desses frutos (MICHAILIDES e ELMER, 2000).

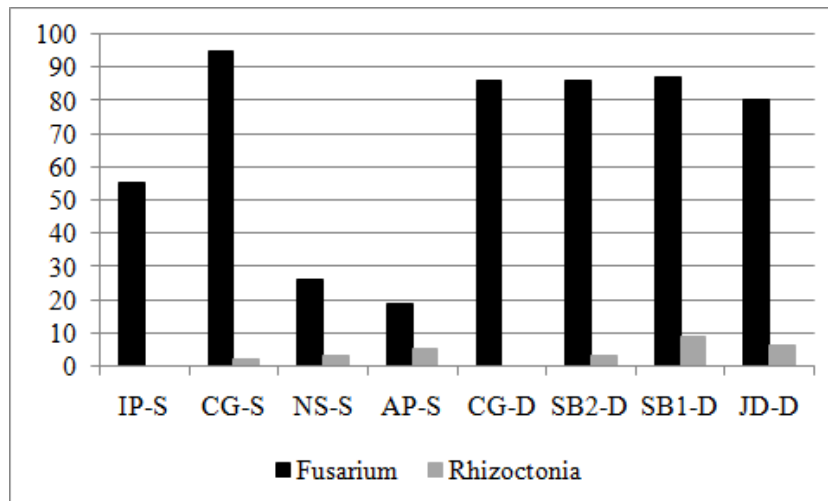
Outro exemplo é a mal-formação-da-manga (*Mangifera indica* L.), causada por *Fusarium sacchari* (E. J. Butler e Hafiz Khan) W. Gams que é uma das principais doenças da espécie, em cultivos em todo o mundo. A doença caracteriza-se pela infecção do patógeno nas inflorescências, transformando-as em uma massa compacta de flores estéreis. Os prejuízos, nesse caso, são em função da total ou parcial supressão das flores, impedindo a produção de frutos (ANJOS e CHARCHAR, 2007).

A podridão-basal-dos-citros (PFC) também conhecida por estrelinha, causada por *Colletotrichum acutatum* é uma das principais doenças dos citros e afeta flores e frutos recém-formados. As flores atacadas pelo fungo apresentam lesões necróticas de coloração róseo-alaranjada, que ocorrem nas pétalas após a abertura dos botões florais. Quando o ataque é nos frutos recém-formados, eles ficam amarelados e caem rapidamente. Já os discos basais, cálices e pedúnculo ficam aderidos aos ramos por mais 18 meses, formando estruturas que parecem “estrelinhas”, que por muitas vezes continuam sendo nutridos pela planta (AZEVEDO et al., 2008).

Na Figura 5 podem-se observar os valores referentes à contaminação de frutos de erva-mate por *Fusarium* e *Rhizoctonia* (Apêndice 7), em diferentes ervais sadios e doentes. Nota-se que há uma grande variação (29 a 90%) nos diferentes ervais, na porcentagem de contaminação por *Fusarium* e uma pequena contaminação (<10%) por *Rhizoctonia*. Apenas dois ervais NS-S (26%) e AP-S (19%) apresentaram uma menor porcentagem de contaminação por *Fusarium*, o IP-S com um número intermediário (55%), e os demais acima de 80%, não havendo distinção entre ervais sadios e doentes quanto à presença dos patógenos.

Na análise dos frutos, além de *Fusarium* e *Rhizoctonia*, foi constatada a presença dos seguintes gêneros fúngicos: *Colletotrichum*, *Verticillium*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Periconia*, *Phoma*, *Chaetomium*, *Oidiodendron*, *Trichoderma*, *Dictyosporium* e *Rhizopus*. Segundo Grigoletti Junior et al. (1996), somente *Colletotrichum* é patogênico à erva-mate. Para os demais gêneros fúngicos não foram encontrados relatos destes fungos causando moléstias para a espécie. *Colletotrichum* é um importante patógeno de flores e frutos em algumas espécies de plantas. Em cultivos de oliveira (*Olea europaea* L.), por exemplo, o patógeno causa graves infecções nas suas flores, causando perdas em decorrência da queda das mesmas e, em seguida, a partir das flores que permanecem, passa a contaminar os frutos, causando prejuízos em função da antracnose (MORAL et al., 2009). Para a cultura do café (*Coffea arabica* L.) em todo o mundo, *Colletotrichum* frequentemente está associado a flores e frutos (FERREIRA e BOLEY, 2010), causando perdas de 50 a até 80% na produção, em decorrência da queda prematura de flores e frutos (FERREIRA et al.,

2005). Os autores encontraram contaminações de frutos de 72% a 94%, dependendo do cultivar, coletados em Minas Gerais. Segundo Paradela Filho et al. (2001), as lesões mais críticas e prejudiciais para o cafeeiro são aquelas nas quais o fungo incide sobre gemas, flores e chumbinho, provocando sua morte e queda, bem como o enegrecimento e morte dos ramos.



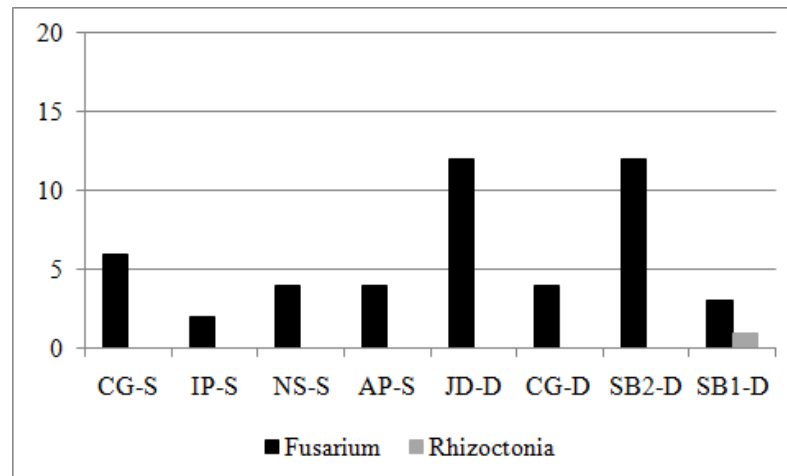
**Figura 5** - Porcentagem de frutos contaminados com fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia*. As indicações IP, CG, NS, AP, SB, e JD referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos ervais e as letras após o hífen referem-se à condição do erval: sadio (S) ou doente (D).

Rego et al. (2008) analisaram frutos e sementes de imbuia (*Ocotea porosa* (Ness) Barroso) coletados em plantas matrizes em Canoinhas-SC e encontraram os gêneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Botryodiplodia*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Epicoccum* e *Gliocladium* em frutos. Nas sementes, o número de gêneros de fungos foi maior, pois, além dos já citados para os frutos, eles constataram *Penicillium*, *Pestalotia*, *Rhizopus*, *Trichoderma* e *Aspergillus*. Os autores apontam *Botryodiplodia*, *Colletotrichum*, *Alternaraia*, *Curvularia* e *Fusarium* como fungos potencialmente patogênicos, tanto para frutos, quanto para sementes.

Em frutos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) coletados em Santa Maria-RS, Ávila et al. (2009) encontraram *Cladosporium*, *Alternaraia*, *Pestalotia*, *Fusarium* e *Penicillium* associados aos frutos. Os autores ressaltam a importância do conhecimento dos fungos associados aos frutos, pois estes podem ser transmitidos para as sementes ocasionando problemas no armazenamento e posterior germinação.

Na Figura 6 são apresentados os valores da porcentagem de sementes de erva-mate contaminadas por *Fusarium* e *Rhizoctonia* (Apêndice 8), oriundas de frutos coletados em ervais na região do Vale do Taquari-RS. Observa-se que mesmo sendo despulpadas em laboratório e desinfetadas com hipoclorito e álcool, as sementes apresentaram contaminação

por *Fusarium*, variando de 2 a 12%. Somente o erval SB1-D apresentou contaminação com *Rhizoctonia*, porém, somente em 1% das sementes. Os demais fungos encontrados foram *Penicillium*, *Trichoderma* e *Alternaria*.

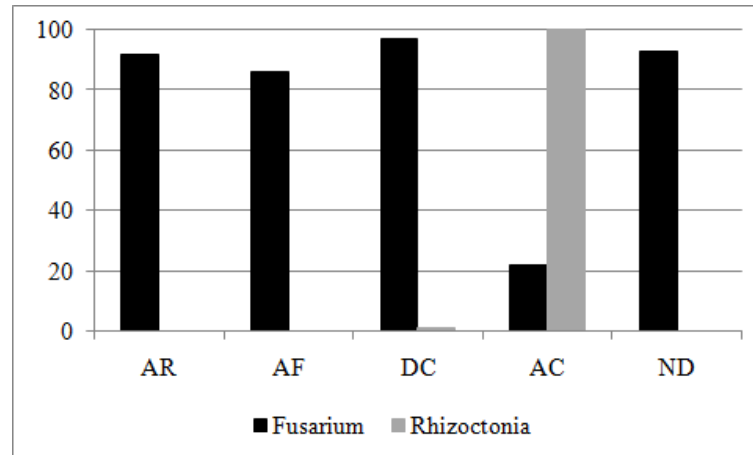


**Figura 6** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* em sementes despulpadas em laboratório. As indicações CG, IP, NS, AP, JD, CG e SB referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos ervais e as letras após o hífen referem-se à condição do erval: sadio (S) ou doente (D).

Pode-se observar na Figura 6 que, mesmo passando por desinfestação, as sementes apresentaram contaminação por fungos, indicando que estes estão colonizando os tecidos internos, dificultando, assim, a adoção de métodos de tratamento das sementes.

Os valores referentes à porcentagem de contaminação de sementes de erva-mate, despulpadas pelos viveiristas, são apresentados na Figura 7. No viveiro AC observa-se que 100% das sementes estavam contaminadas por *Rhizoctonia* e apenas 22% por *Fusarium*. Já os demais viveiros apresentaram uma alta contaminação, todos acima de 86%.

Há uma porcentagem de contaminação bem maior nas sementes despulpadas pelos viveiristas (Figura 7), se comparada com as despulpadas em laboratório (Figura 6). Além da desinfestação com hipoclorito e álcool, que pode ter diminuído a quantidade de inóculo nas sementes despulpadas em laboratório, o método de despulpamento utilizado pelos viveiristas pode proporcionar essa maior contaminação.



**Figura 7** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* em sementes despulpadas pelos viveiristas e coletadas antes de serem colocadas para estratificação. As indicações AR, AF, DC, AC e ND referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.

Segundo relato dos viveiristas dos viveiros em que foram coletadas as sementes, o método de despulpamento comumente utilizado consiste em: os frutos são, primeiramente, colhidos e colocados de três a cinco dias na sombra, sobre uma lona plástica, para amolecerem. Após esse período, os frutos são moídos e as sementes são lavadas em água corrente. Em seguida, as sementes são colocadas à sombra, para secar, por cerca de 10 dias. Nesse processo, não há a preocupação em retirar toda a casca e a polpa dos frutos, pois há um gasto grande de água neste processo. Analisando o método utilizado pelos viveiristas pode-se inferir que os restos de polpa e casca que permanecem aderidos às sementes podem constituir a fonte do inóculo de patógenos e, inclusive, de nutrientes para seu desenvolvimento, já que, como demonstrado na Figura 5, os frutos apresentaram alta porcentagem de contaminação. Além disso, durante o período de secagem das sementes, pode haver desenvolvimento de patógenos nos restos de polpa e casca, podendo contaminar as sementes adjacentes.

Além disso, a presença de diferentes fungos associados às sementes despulpadas pelos viveiristas é bem maior do que as despulpadas no laboratório. Foram encontrados os seguintes gêneros: *Verticillium*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Phoma*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Dactylella*, *Oidiodendron* e *Rhizopus*. Isso indica que as sementes não são lavadas corretamente, ou que são expostas à contaminação por estes fungos.

Rego et al. (2009) analisaram os fungos associados aos frutos e sementes de capororoca (*Myrsine ferruginea* Spreng. *sin Myrsine coriacea* (SW) R. Br.), coletados em 12 matrizes no estado do Paraná. Eles encontraram os gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Macrophominia*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Phomopsis* e *Verticillium*



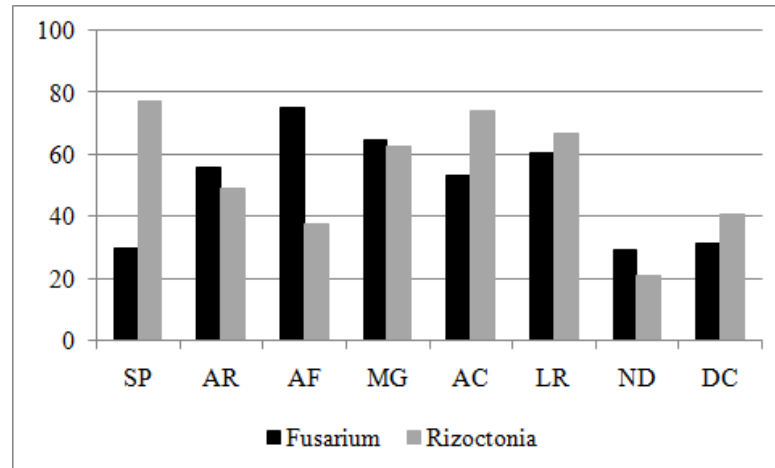
como fungos potencialmente patogênicos e *Epicoccum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Periconia*, *Trichotecium*, *Trichoderma* como fungos saprófitas, sendo *Mucor* e *Penicillium* considerados apodrecedores de sementes.

Ávila et al. (2004) detectaram os seguintes gêneros fúngicos associados a frutos de araticum (*Rollinia salicifolia* (A. St.-Hil.) Mart.): *Alternaria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*. Nas sementes, ocorreu a presença de *Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Porém, os autores não avaliaram a patogenicidade destes fungos em sementes ou em mudas.

Benetti et al. (2009) realizaram um levantamento de fungos associados a sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) coletadas em diversos locais do estado do Paraná e avaliaram a patogenicidade de alguns isolados na germinação das mesmas. Os autores encontraram os gêneros *Penicillium*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Pestalotia*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Phomopsis*, *Colletotrichum*, *Macrophominia*, *Trichotecium*, *Epicoccum* e *Cladosporium* e constataram a redução da germinação de sementes inoculadas com alguns isolados de *Fusarium* e *Pestalotia*.

A presença de *Trichoderma* em frutos e sementes é interessante, pois esse fungo é um importante antagonista ao *Fusarium* e *Rhizoctonia*. Segundo Martins-Corder e Melo (1998) e Melo (1998), este fungo tem como característica a produção abundante de conídios em conidióforos que emergem diretamente das hifas. É um fungo de solos orgânicos, vivendo saprofiticamente ou parasitando outros fungos. É um antagonista eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos. Várias espécies têm sido utilizadas em biocontrole, entretanto, *Trichoderma harzianum* é a espécie mais estudada. As espécies têm sido utilizadas tanto para patógenos radiculares, como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. e *Armillaria* spp., como da parte aérea, como *Venturia* spp., *Botrytis* spp, etc. *Trichoderma* pode atuar, via de regra, por meio de um ou da associação dos seguintes mecanismos: parasitismo, antibiose, competição e indução de resistência.

No processo de estratificação, as sementes são colocadas, geralmente, em uma caixa de madeira por três a quatro meses e mantidas úmidas. Estas podem ser misturadas à areia ou em camadas intercaladas de areia e sementes. Neste processo, a concentração de sementes, em ambiente úmido, favorece o desenvolvimento e a transmissão de patógenos. Os valores da porcentagem de contaminação das sementes coletadas durante esse processo encontram-se na Figura 8. Com exceção dos viveiros ND e DC, os demais apresentaram 100% de incidência das sementes por *Fusarium* ou *Rhizoctonia*, isolados ou conjuntamente, infestando as sementes.



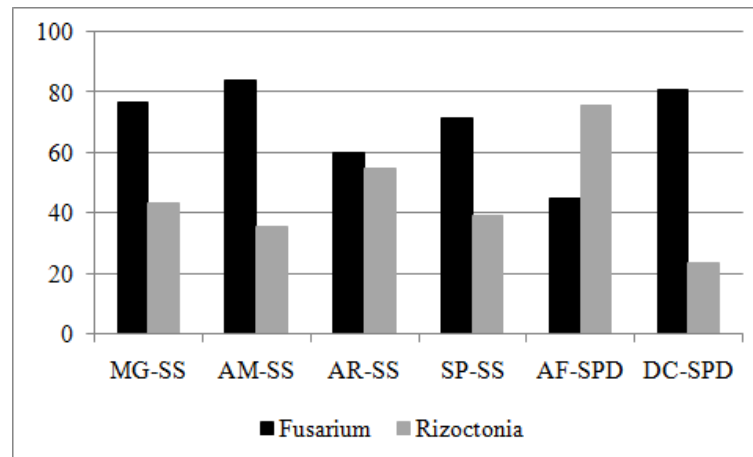
**Figura 8** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* em sementes coletadas durante o período de estratificação. As indicações SP, AR, AF, MG, AC, LR, ND, e DC referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.

Nota-se na Figura 8 que a contaminação por *Rhizoctonia* ficou bem mais evidente nas sementes em processo de estratificação, quando comparadas às sementes coletadas antes desse processo. Torna-se claro, assim, que a concentração das sementes durante a estratificação faz com que o inóculo, presente em algumas sementes, passe para as adjacentes, contaminando-as.

Hoefnagels e Linderman (1999) analisaram três lotes de sementes de *Pseudotsuga menziesii* coletadas em diversas regiões dos Estados Unidos quanto à contaminação por fungos e constataram nove espécies de *Fusarium* associadas, além de *Gliocladium*, *Cylindrocarpon*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichothecium*, *Talaromyces* e *Trichoderma*. Eles também demonstraram que o processo de estratificação das sementes desta espécie é responsável pelo significativo aumento na porcentagem de sementes contaminadas por *Fusarium*, de 10% a 15% antes da estratificação, para quase 100% ao final e que, a presença desse patógeno, internamente às sementes, é de difícil erradicação.

Barrows-Broaddus e Dwinell (1985) relataram que *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* Wollenw. e Reick., agente causal do cancro-do-pinus (*Pinus* spp.), foi observado variando de 0% até 98% nas sementes da espécie, dependendo do lote.

Na Figura 9 são apresentados os valores referentes à contaminação de sementes coletadas na sementeira ou no plantio direto. Novamente foi observado um alto percentual de contaminação por *Fusarium* e *Rhizoctonia*. O *Fusarium* foi constatado, variando de 45% a 84% das sementes, dependendo do viveiro, já a *Rhizoctonia* estava presente entre 23% a 76% e, na maioria das vezes, os dois patógenos foram observados na mesma semente.



**Figura 9** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia* em sementes coletadas na sementeira e em semeadura direta. As indicações MG, AM, AR, SP, AF e DC referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros e as letras após o hífen referem-se às sementes em semeadura direta (MPD) ou em semeadura na sementeira (SS).

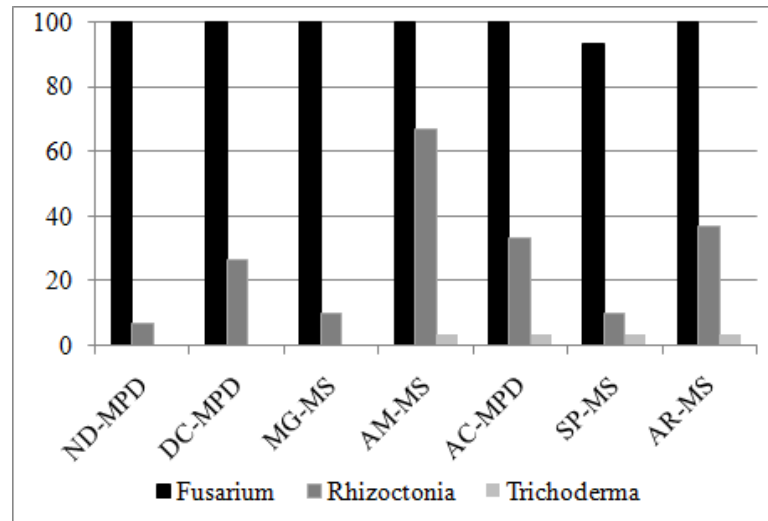
Os demais fungos encontrados nas sementes em estratificação (Figura 8) e nas semeadas (Figura 9), praticamente foram os mesmos e pertencem aos gêneros *Verticillium*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Phoma*, *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Dictyosporium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Rhinochadiella*, *Doratomyces*, *Circinotrichum*, *Amerosporium*, *Gliocephalis*, *Asteromyces*, *Nigrospora*, *Trichothecium*, *Arthrobotrys* e *Rhizopus*. A abundância de fungos encontrados nas sementes é devido ao contato das mesmas com o substrato, naturalmente rico em microrganismos.

Segundo Carneiro (1995), mudas originadas de sementes de baixa qualidade sanitária e fisiológica, ficam predispostas aos danos provocados pelas doenças. Sementes de pouco vigor, mal beneficiadas, velhas ou em más condições de armazenamento, apresentam lenta emergência à superfície do substrato, favorecendo, conseqüentemente, o surgimento de doenças, como o “damping-off”.

Na Figura 10 são apresentados os valores referentes à análise da contaminação de plântulas coletadas em sementeira e em plantio direto (Apêndice 9). Pode-se observar que a maioria dos viveiros apresenta 100% de contaminação por *Fusarium*. Em relação a *Rhizoctonia*, a contaminação é menor, em média 27%. A maioria das plântulas apresentava regiões enegrecidas ou necróticas no sistema radicular (Apêndice 10).

O fungo *Trichoderma* é conhecido como controlador biológico de patógenos, principalmente, *Fusarium* e *Rhizoctonia* (MELO, 1998) e sua presença nas plântulas de erva-mate poderia ter tal efeito. Porém, este fungo foi encontrado em somente quatro dos viveiros analisados e, em apenas 3% das plântulas, em média (Figura 10). Os demais fungos

observados nas plântulas foram *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Verticillium* e *Trichotecium*, todos relatados como decompositores de matéria orgânica.



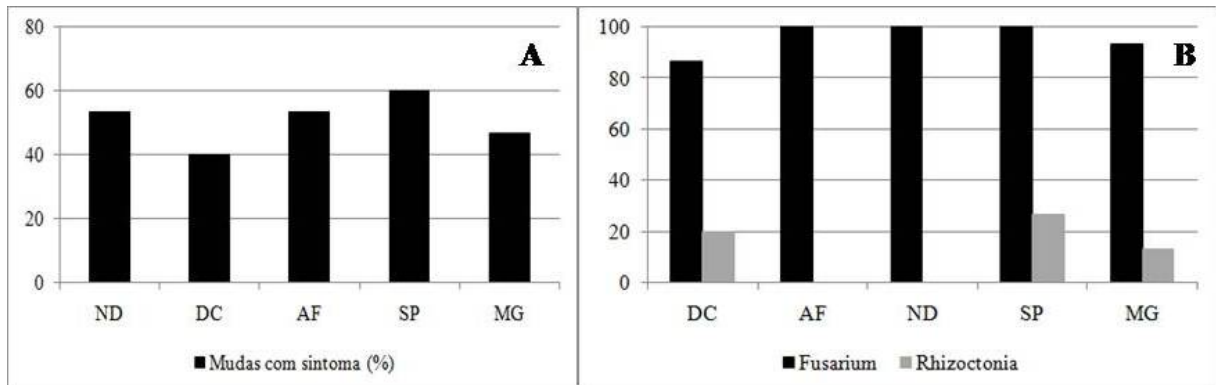
**Figura 10** - Porcentagem de contaminação por fungos do gênero *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Trichoderma* em plântulas sob semeadura direta e em sementeira. As indicações ND, DC, MG, AM, AC, SP, e AR referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros e as letras após o hífen referem-se à plântula em semeadura direta (MPD) ou em semeadura na sementeira (MS).

Graham e Linderman (1983) descrevem que a doença “damping-off” de pré e pós-emergência em *Pseudotsuga menziensis* (Mirb.) Franco e *Pinus lambertiana* Dougl., nos Estados Unidos, eram frequentemente, associadas ao *Fusarium oxysporum* oriundo do solo, ar ou água de irrigação, porém, eles comprovaram que as frequentes perdas por “damping-off” de mudas em viveiros eram provocadas por infecções de *F. oxysporum* transmitido por sementes e que, todos os isolados testados apresentaram alta severidade de “damping-off” de pré e pós-emergência e podridão-de-raízes das mudas.

Apesar de toda a perspectiva de transmissão de um fitopatógeno associado à semente, esta associação não implica necessariamente no surgimento de doenças após a semeadura, embora muitos fitopatógenos associados às sementes sejam potencialmente capazes de causar doenças. O fenômeno de transmissão ocorre caso a doença se manifeste no viveiro, após a semeadura (MENTEN, 1987 apud ARAÚJO, 2008).

Na Figura 11A são apresentados os dados referentes à análise do sistema radicular e do colo das mudas, no estágio final do ciclo de viveiro. Cerca de 40% a 60% das mudas, dependendo do viveiro, apresentaram sintomas da doença (regiões necróticas ou enegrecidas) (Apêndice 11A) no sistema radicular, mesmo não apresentando sintomas visíveis na parte aérea. Na figura 11B são apresentados os valores de contaminação por *Fusarium* e

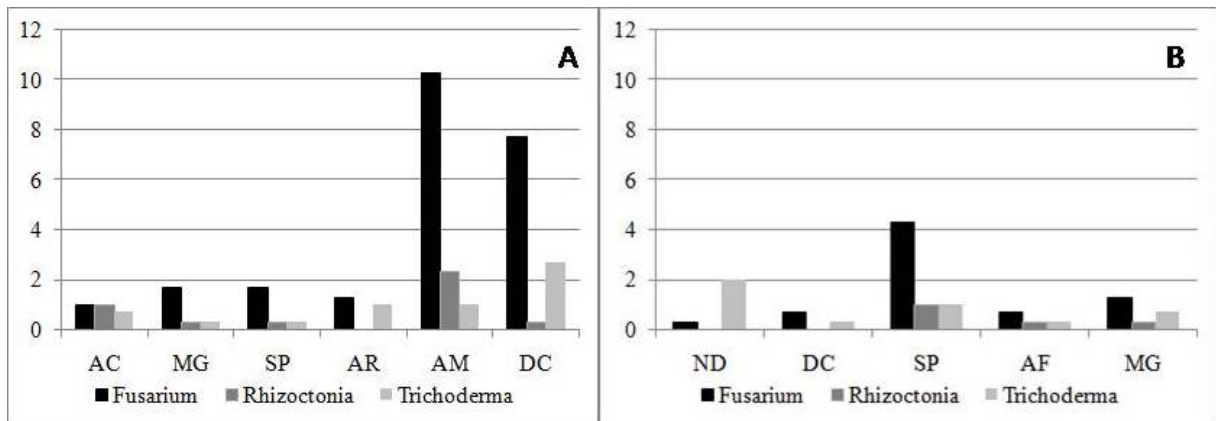
*Rhizoctonia*, no sistema radicular de mudas de erva-mate, ao final do ciclo de viveiro. Nota-se que em praticamente todos os viveiros, há 100% de contaminação das mudas (Apêndice 11B), mesmo não apresentando sintomas na parte aérea. Assim, mudas contaminadas por patógenos, são transplantadas para o campo, podendo contaminar áreas livres de patógenos e, conseqüentemente, ocasionar perdas por mortalidade de plantas.



**Figura 11** - Análise de mudas de erva-mate no final do ciclo de viveiro. (A) Porcentagem de mudas que apresentaram sintomas de podridão-de-raízes. (B) Porcentagem de mudas que apresentaram contaminação por fungos do gênero *Fusarium* e *Rhizoctonia*. As indicações ND, DC, AF, SP, e MG referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.

Na Figura 12A são apresentados os dados do número de UFCs ( $\text{mg}^{-1}$  de substrato) de *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Trichoderma* presentes no substrato utilizado em diferentes viveiros, coletado antes de ser utilizado para produção de mudas. Observa-se que há uma variação na quantidade de *Fusarium* de 1,0 até 10,3 UFCs  $\text{mg}^{-1}$  de substrato, dependendo do viveiro. No viveiro AM há uma população considerável de *Fusarium* (10,3 UFCs). A população de *Rhizoctonia* variou de 0 até 2,3 UFCs. Isso poderá refletir em perdas na germinação de sementes e/ou por mortalidade de mudas com a utilização deste substrato. *Trichoderma* está presente em todos os viveiros, porém com uma população baixa (0,3 a 2,7).

Na Figura 12B são apresentados os valores do número de UFCs ( $\text{mg}^{-1}$  de substrato) de *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Trichoderma* presentes no substrato coletado nos recipientes de mudas ao final do ciclo de viveiro. Observa-se que há uma variação no número de UFC das populações de fungos para cada viveiro. O viveiro SP apresentou a maior população de *Fusarium* (4,3), mas este esteve presente em todos os viveiros. *Rhizoctonia* foi constatado nos viveiros SP, AF e MG com uma população variando de 0,3 a 1,0. *Trichoderma* foi observado em todos os viveiros com uma população variando de 0,3 a 2,0.



**Figura 12** - Número de UFCs  $\text{mg}^{-1}$  de substrato de *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Trichoderma*. (A) Substrato coletado antes de ser utilizado. (B) Substrato coletado nos recipientes de mudas ao final do ciclo de viveiro. As indicações AC, MG, SP, AR, AM, DC, e AF referem-se às iniciais dos nomes dos proprietários dos viveiros.

Analisando a Figura 12 A e B conjuntamente, observa-se que a população de *Fusarium*, em geral, foi maior no substrato antes de ser utilizado para a produção de mudas, comparado com o examinado ao final do ciclo de viveiro. Essa tendência foi observada para os demais fungos também. Uma explicação para isso poderia ser o fato que ao final do ciclo de viveiro, o substrato tenha perdido uma determinada quantidade de nutrientes em função da absorção pela muda e, também, pela lixiviação com a água de irrigação.

Os resultados mostrados acima evidenciam que as técnicas de obtenção de sementes, e manejo e cultivo dos viveiros, proporcionam o surgimento de patógenos transmitidos por sementes e substrato, chegando a 100% de contaminação por *Fusarium* e *Rhizoctonia*, refletindo em perdas por mortalidade de mudas e, também, na qualidade final das mudas.

Para Cram e Fraedrich (2009), citando outros autores<sup>4</sup>, doenças em sementes de espécies florestais, relacionadas a patógenos transmitidos pelas sementes, são causadas principalmente por fungos, e numerosas espécies podem estar associadas, mas muitas são saprófitas, e não afetam o desempenho e a sanidade de sementes. Perdas relacionadas a esses patógenos incluem redução na germinação, aumento do damping-off e mortalidade de mudas mais velhas. O efeito desses patógenos na produção de sementes e mudas implica em perdas insignificantes ou até grandes falhas em sementeiras ou nos recipientes. Quantificar as perdas causadas por patógenos de sementes é, geralmente, uma tarefa difícil, pois podem ser de outras causas, como damping-off causado por fungos de solo. O conhecimento da biologia dos patógenos, de sementes, e práticas para seu manejo e controle, pode ajudar nos pomares de sementes e viveiristas a reduzir perdas de sementes e mudas.

<sup>4</sup> Wang (1987); Mittal et al. (1990); Campbell e Landis (1990).

#### 4.2.4 Testes de patogenicidade

Foram coletadas, purificadas e armazenadas 81 colônias de *Fusarium* isoladas de flores, frutos, sementes e substrato. Em função do grande número de isolados, o que demandaria muitas mudas para inoculação e realização dos testes de patogenicidade, esses foram agrupados em função da semelhança na coloração e morfologia de crescimento das colônias. Assim, com este agrupamento, foram selecionados 45 isolados para inoculação nas mudas de erva-mate.

Mesmo que algumas mudas tenham apresentado sintoma de estagnação de crescimento e amarelecimento das folhas, o tempo de avaliação (2 meses) não é suficiente para respostas conclusivas. Então, as mudas continuarão sob avaliação até dezembro de 2010. As mudas sem inoculação (testemunhas) não apresentaram qualquer sintoma.

#### 4.3 Seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagonistas à *Fusarium* spp.

Na Tabela 10, são apresentados os resultados da análise da variância para os diferentes isolados de *Trichoderma*. Observa-se que o efeito dos isolados foi estatisticamente significativo. O coeficiente de variação apresentou um valor médio (11,94%), o que é frequente nesse tipo de variável.

**Tabela 10** – Análise da variância entre os diferentes isolados de *Trichoderma*.

| Causa da variação | QM     | Fc    | Ft    |
|-------------------|--------|-------|-------|
| Blocos            | 0,4222 | 1,65  | 2,83  |
| Isolados          | 6,3381 | 24,80 | 1,94* |
| Resíduo           | 0,2556 |       |       |
| CV (%)            | 11,94  |       |       |

Onete: \* = Efeito significativo a 5% de probabilidade de erro; QM = Quadrado médio; Fc = distribuição F calculado; Ft = distribuição F tabelado; CV = coeficiente de variação.

Na Tabela 11 são apresentados os valores obtidos para os diferentes isolados de *Trichoderma* e a comparação de médias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. Observa-se que o teste de comparação de médias agrupou os isolados em quatro diferentes grupos. O isolado SP-SFE-T1 apresentou a menor média (1,25), diferindo

estatisticamente dos demais, assim, foi considerado o isolado mais eficiente na supressão de *Fusarium* sp., impedindo quase que totalmente o desenvolvimento do patógeno. Em seguida, há o segundo grupo composto pelos isolados DC-ME, AC-OSD-T2 e AC-OSD-T1, que também podem ser considerados eficientes na supressão de *Fusarium* sp., obtendo médias entre 3,00 e 3,50. Um terceiro grupo, composto por oito isolados, apresentou valores intermediários, com médias variando entre 4,00 e 4,50. O isolado menos eficiente foi o AF-ME (5,75) com valor estatisticamente igual às testemunhas.

Ethur (2006), selecionando isolados de *Trichoderma* spp. pelo teste de confrontação direta, classificou como “eficientes” aqueles que apresentaram notas de 2,0 a 2,5 e “muito eficientes” aqueles com notas de 1,0 a 1,5.

Menezes (2007) observou através do teste de pareamento de culturas, o potencial antagonista de 100 isolados de *Trichoderma* spp. coletados no solo de cultivo de crisântemo em Santa Maria-RS contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* e, dentre estes, os isolados UFSMT15.1 e UFSMT16 foram os que se destacaram com média de notas de 1,25. Já o isolado UFSMT17 destacou-se como um dos piores. Entretanto, quando os isolados foram testados *in vivo* no controle da murcha-de-fusarium em crisântemo, somente o isolado UFSMT15.1 apresentou 100% de controle da doença, enquanto que, UFSMT16 assemelhou-se ao isolado UFSMT17, apontado como um dos menos eficientes nos testes *in vivo*.

Já Ethur (2006), observou que dentre os 80 isolados fúngicos obtidos de solos cultivados com tomate e pepino, os isolados de *Trichoderma* HTSR5, ETSR20 e ETSR8 foram os mais eficientes no controle de *Fusarium solani* e *F. oxysporum* (patógenos das duas culturas) em testes *in vivo*, e os mesmos foram classificados como “eficientes” e “muito eficientes” (notas entre 1.0 e 2.5) no controle dos patógenos nos testes *in vitro*.

Diante disso, faz-se necessário que além dos testes *in vitro*, estes isolados (Tabela 11) sejam testados *in vivo* para observação da sua real eficiência no controle da podridão-de-raízes da erva-mate. Depois disso, os isolados mais eficientes poderiam ser recomendados para a produção massal e uso nos viveiros e/ou ervais atacados pela doença.



**Tabela 11** – Comparação de médias das notas atribuídas à ação dos diferentes isolados de *Trichoderma* de acordo com o modelo de Bell et al. (1982) adaptado por Rodrigues (2010).

| <b>Isolados</b> | <b>Média</b> | <b>Scott-Knott</b> |
|-----------------|--------------|--------------------|
| TEST. 1         | 6,25         | a*                 |
| TEST. 2         | 6,25         | a                  |
| AF-ME           | 5,75         | a                  |
| SR1             | 4,50         | b                  |
| DC-OSD-T1       | 4,50         | b                  |
| SP-ME           | 4,25         | b                  |
| ND-ME           | 4,25         | b                  |
| AR-SFE-T1       | 4,25         | b                  |
| DC-OSD-T3       | 4,25         | b                  |
| SR2             | 4,00         | b                  |
| DC-OSD-T2       | 4,00         | b                  |
| AC-OSD-T1       | 3,50         | c                  |
| AC-OSD-T2       | 3,50         | c                  |
| DC-ME           | 3,00         | c                  |
| SP-SFE-T1       | 1,25         | d                  |

\* Médias não seguidas de mesma letra diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Os métodos de seleção de *Trichoderma* spp., *in vitro*, além de serem práticos, servem como uma seleção preliminar para avaliar a capacidade antagonista, e também indicam o comportamento do microrganismo, com relação à sua capacidade de adaptação, crescimento e reprodução. Porém, existem algumas restrições com relação aos testes *in vitro*, pois os resultados positivos obtidos podem não se refletir nas condições *in vivo* (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2000).

Um dos pressupostos para o sucesso do biocontrole com *Trichoderma* spp. é a capacidade de adaptação ao microhabitat onde é introduzido, além da natureza das propriedades antagonistas e mecanismos de ação do hiperparasita à determinado patógeno, intrínseca a cada espécie ou isolado. Assim, a seleção de *Trichoderma* com potencial antagonista, habitante do local onde está localizado o patossistema é uma ferramenta interessante para evitar falhas no biocontrole, evitando problemas de inadaptabilidade (MELO, 1998; ETHUR, 2006; MENEZES, 2007).

Para Howell (2003) e Harman (2006), os mecanismos que as espécies de *Trichoderma* utilizam na interação (biocontrole) com outros organismos são variados, e dentre eles, destacam-se o micoparasitismo e a produção de toxinas, a competição, a competência em colonizar a rizosfera, a produção de enzimas, a indução de resistência em plantas, entre outros. Assim, alguns mecanismos envolvidos no biocontrole, pelo *Trichoderma*, podem não se manifestar nos testes *in vitro*, e sim, no ambiente do patossistema.

#### 4.4 Controle da mortalidade de plântulas em sementeira

Na Tabela 12 são apresentados os valores referentes à análise química do substrato utilizado nos experimentos SP e AR. De acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do RS e SC (COMISSAO DE QUIMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004), o substrato apresentou as seguintes características:

**Tabela 12** – Análise química do solo utilizado nos experimentos SP e AR.

| Vivei-<br>ro | MO  | Argila | pH               | Índice | P*                  | K*  | Al                     | Ca   | Mg  | CTC               | V    | m   |
|--------------|-----|--------|------------------|--------|---------------------|-----|------------------------|------|-----|-------------------|------|-----|
|              | %   |        | H <sub>2</sub> O | SMP    | mg dm <sup>-3</sup> |     | cmolc dm <sup>-3</sup> |      |     | pH <sub>7,0</sub> | %    |     |
| SP           | 2,8 | 13     | 4,9              | 6,4    | 10,9                | 220 | 0,1                    | 11,2 | 3,1 | 17,7              | 84,0 | 1,0 |
| AR           | 6,0 | 16     | 5,9              | 6,8    | 13,5                | 332 | 0,0                    | 15,8 | 4,1 | 22,4              | 93,0 | 0,0 |

Em que: MO = Matéria Orgânica; m = Saturação por Alumínio; V = Saturação por bases; \* = Extrator Mehlich I.

A MO foi considerada “baixa” no viveiro SP e alta no AR. A MO exerce um papel fundamental na química do solo, apresentando alta capacidade de interagir com outros componentes, alterando assim, propriedades químicas, físicas e biológicas do substrato. É fonte de nutrientes, sobretudo N, S e P, quando mineralizada, sendo a principal fonte de N (SILVA et al., 2004). Portanto, quando a MO está baixa, há deficiência de N no substrato. Plantas cultivadas em condições de deficiência de nitrogênio podem tornar-se debilitadas, crescerem lentamente e se tornarem susceptíveis a patógenos (ZAMBOLIM et al., 2001). Dentre os mecanismos de interação nitrogênio-doença, o N influencia o patossistema por causar mudanças na fisiologia das plantas, por afetar o crescimento ou a virulência do patógeno e por modificar o ambiente biótico e abiótico, especialmente na rizosfera (HUBER e THOMPSON, 2007).

O Fósforo foi considerado “baixo” em ambos os viveiros. Segundo Prabhu et al. (2007a), o P aumenta a resistência das plantas a diferentes doenças, por aumentar a concentração do nutriente nos tecidos ou por acelerar a maturidade destes. Vários casos de incremento da resistência direta, pela nutrição adequada de fósforo, podem ser atribuídos ao incremento do vigor da planta e afetar alguns patógenos. A podridão-radicular em pinus, causada por *Polyporus schwinitzii* é menos severa com o suprimento de P. O “damping-off” de mudas de coníferas causado por *Fusarium oxysporum* é diminuído com o suprimento do nutriente.

O Potássio foi considerado “muito alto” em ambos os viveiros. Para Prabhu et al. (2007b), o K é importante para muitos processos vitais da planta, aumentando o crescimento de raízes e promovendo, com isso, a captação de água e nutrientes, sendo constituinte e regulador de mais de sessenta diferentes enzimas envolvidas no crescimento da planta. A fertilização do solo, com níveis baixos de potássio, pode reduzir a resistência de várias espécies de plantas ao ataque de *Fusarium oxysporum*. Esse fato tem sido verificado, também, em algodoeiro e tomateiro, em relação à murcha de *Verticillium* (ZAMBOLIM et al., 2001). Entretanto, algumas outras doenças são mais severas com o aumento do nutriente, como é o caso da podridão-radicular em coníferas, causada por *Armillaria mellea* e *Phytophthora* spp., a podridão-radicular do feijoeiro, causada pela *Rhizoctonia solani*, do trigo, causada por *Fusarium* spp. e da soja, causada por *Phytophthora megasperma* (PRABHU et al., 2007b).

O Cálcio e Magnésio foram considerados “muito altos” em ambos os viveiros. Além do efeito sobre o pH do solo, o cálcio pode ser importante na resistência de plantas a doenças, em razão do seu papel na composição da parede celular, conferindo resistência. O  $\text{Ca}^{2+}$  está envolvido na resistência do tomateiro aos fungos *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* spp. e *Sclerotium rolfsii* e, da mamona à *Botrytis* spp., por proteger os compostos pécticos da maceração por enzimas extracelulares desses patógenos. A aplicação de cálcio no solo pode reduzir a severidade de várias doenças causadas por patógenos de raiz e/ou caule, entre os quais se destacam: *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Botrytis* e *Fusarium* (HUBER, 1980 apud ZAMBOLIM e VENTURA, 1993).

O  $\text{Mg}^{2+}$  está constantemente associado ao cálcio, já que pode ser aplicado ao solo, visando neutralizar o pH. Da mesma forma que o  $\text{Ca}^{2+}$ , o  $\text{Mg}^{2+}$  pode reduzir ou não a severidade de doenças, dependendo da combinação hospedeiro-patógeno-ambiente. Tem-se verificado que o  $\text{Mg}^{2+}$  reduz o teor de  $\text{Ca}^{2+}$  em vagens de amendoim, predispondo-as ao ataque de *Rhizoctonia* e *Pythium*. Alguns autores têm atribuído ao desbalanço nutricional, envolvendo  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e S, a causa primária do ataque destes patógenos (ZAMBOLIM et al., 2001).

Jones e Huber (2007), citando outros autores<sup>5</sup>, exemplificam alguns patossistemas nos quais o  $\text{Mg}^{2+}$  presente no solo ou no tecido vegetal influencia na severidade da doença. A podridão-radicular do amendoim, causada por *Fusarium* spp., *Pythium myriotylum* e *Rhizoctonia solani*; a murcha-de-fusarium em tomateiro, causada por *Fusarium oxysporum* e

---

<sup>5</sup> Halleck e Garren (1968), Csinos e Bell (1989), Bell (1989), Jones et al. (1989), Beteman (1965), Castano e Kernkamp (1956), Lyakh (1986), National Research Council (1968) e Batson (1971).

a podridão-radicular em algodoeiro, causada por *Phymatotrichum omnivorum*, são exemplos de doenças que aumentam com o suprimento do nutriente.

Embora não existam estudos conclusivos na literatura, sobre a influência de cada nutriente na severidade da podridão-de-raízes da erva-mate, os resultados obtidos para outros patossistemas indicam que pode haver forte influência dos teores de nutrientes, presentes no substrato, na incidência e severidade de patógenos e, principalmente, quantidades acima ou abaixo do necessário para a planta são fatores de predisposição das plantas às doenças.

Na Tabela 13, são apresentados os valores de significância obtidos na análise da variância para as variáveis: população de *Fusarium* (Fus), *Rhizoctonia* (Rhi), *Trichoderma* (Tri) e total de fungos presentes (Tot), nos dois experimentos. Observa-se que o coeficiente de variação apresentou valores médios, o que é normal para esse tipo de variável. No viveiro SP, somente a variável Tot apresentou significância a 5% de probabilidade de erro. Já no viveiro AR, duas variáveis foram significativas, Fus e Tri.

**Tabela 13** – Análise da variância para as variáveis: população de *Fusarium* (**Fus**), *Rhizoctonia* (**Rhi**), *Trichoderma* (**Tri**) e total de fungos presentes (**Tot**), em dois experimentos.

| Causa da variação  | Fus    |     |     | Rhi   |     |     | Tri    |     |     | Tot    |      |     |
|--------------------|--------|-----|-----|-------|-----|-----|--------|-----|-----|--------|------|-----|
|                    | QM     | Fc  | Ft  | QM    | Fc  | Ft  | QM     | Fc  | Ft  | QM     | Fc   | Ft  |
| <b>Viveiro SP</b>  |        |     |     |       |     |     |        |     |     |        |      |     |
| <b>Blocos</b>      | 0,071  | 0,9 | 5,1 | 0,100 | 2,6 | 5,1 | 0,047  | 1,2 | 5,1 | 0,002  | 0,0  | 5,1 |
| <b>Tratamentos</b> | 0,005  | 0,1 | 4,8 | 0,006 | 0,2 | 4,8 | 0,146  | 3,8 | 4,8 | 4,206* | 49,9 | 4,8 |
| <b>Resíduo</b>     | 0,082  |     |     | 0,038 |     |     | 0,039  |     |     | 0,084  |      |     |
| <b>CV (%)</b>      | 11,07  |     |     | 12,69 |     |     | 11,30  |     |     | 11,30  |      |     |
| <b>Viveiro AR</b>  |        |     |     |       |     |     |        |     |     |        |      |     |
| <b>Blocos</b>      | 0,323  | 3,6 | 5,1 | 0,122 | 0,6 | 5,1 | 0,203  | 2,4 | 5,1 | 0,814  | 4,1  | 5,1 |
| <b>Tratamentos</b> | 0,578* | 6,4 | 4,8 | 0,386 | 2,0 | 4,8 | 0,447* | 5,3 | 4,8 | 0,572  | 2,9  | 4,8 |
| <b>Resíduo</b>     | 0,090  |     |     | 0,192 |     |     | 0,084  |     |     | 0,200  |      |     |
| <b>CV (%)</b>      | 10,18  |     |     | 25,83 |     |     | 14,65  |     |     | 7,207  |      |     |

Onete: \* = Efeito significativo a 5% de probabilidade de erro; QM = Quadrado médio; Fc = distribuição F calculado; Ft = distribuição F tabelado; CV = coeficiente de variação.

Na Tabela 14 são apresentados os valores obtidos para as variáveis e a comparação de médias dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. No viveiro SP pode-se observar que a população total de fungos (Tot) no substrato foi significativamente maior no tratamento testemunha, em comparação aos demais, que foram estatisticamente iguais. Esse efeito pode ser atribuído a aplicação dos tratamentos químico e biológicos, que provocou uma diminuição da população fúngica total. Embora com efeito não significativo,

não foi constatada a presença de *Trichoderma* no tratamento testemunha. Nos demais tratamentos esse fungo estava presente, porém com baixos valores. A população de *Fusarium*, mesmo, com efeito não significativo, foi maior no tratamento testemunha em relação aos demais.

No viveiro AR (Tabela 14) observa-se que, mesmo com efeito não significativo, a população total de fungos no substrato (Tot) foi maior que nos demais tratamentos, da mesma forma que no viveiro SP. A população de *Rhizoctonia* (Rhi) também não apresentou significância, porém, no tratamento com aplicação de Agrotich<sup>®</sup>, não foi constatada a presença do fungo, enquanto que, quando foi aplicado Captan SC<sup>®</sup>, foi observada a maior população (0,7). Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários. A população de *Fusarium* (Fus) apresentou efeito significativo e o maior valor foi observado quando foi aplicado Captan SC<sup>®</sup> (11,0) e o menor valor no tratamento Testemunha (5,0). Para a variável Tri, a maior população de *Trichoderma* foi observada no tratamento com Agrotich<sup>®</sup> (4,7) seguido pelo Trichodel<sup>®</sup> (1,7), e Captan SC<sup>®</sup> e Testemunha com o menor valor (1,0).

**Tabela 14** – Comparação entre médias dos tratamentos para as variáveis população de *Fusarium* (Fus), *Rhizoctonia* (Rhi), *Trichoderma* (Tri) e total de fungos presentes (Tot) (UFCs mg<sup>-1</sup> de substrato), em dois experimentos.

| Trat.                  | Variáveis |      |       |       |
|------------------------|-----------|------|-------|-------|
|                        | Fus       | Rhi  | Tri   | Tot   |
| <b>Viveiro SP</b>      |           |      |       |       |
| Agrotich <sup>®</sup>  | 4,7       | 0,3  | 1,7   | 13,3b |
| Trichodel <sup>®</sup> | 4,7       | 0,3  | 1,3   | 14,3b |
| Captan SC <sup>®</sup> | 4,7       | 0,7  | 1,3   | 16,3b |
| Testemunha             | 5,0       | 0,3  | 0,0   | 39,3a |
| CV%                    | 11,1      | 12,7 | 11,3  | 6,2   |
| <b>Viveiro AR</b>      |           |      |       |       |
| Agrotich <sup>®</sup>  | 5,7b      | 0,0  | 4,7a  | 32,3  |
| Trichodel <sup>®</sup> | 6,0ab     | 0,3  | 1,7ab | 32,3  |
| Captan SC <sup>®</sup> | 11,0a     | 3,3  | 1,0b  | 40,0  |
| Testemunha             | 5,0b      | 0,7  | 1,0ab | 42,7  |
| CV%                    | 10,2      | 25,8 | 14,6  | 7,2   |

Médias não seguidas de mesma letra diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os demais fungos presentes no substrato da sementeira foram: *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Metarhizium*, *Mucor* e *Nigrospora*. *Metarhizium* é considerado um importante fungo entomopatogênico (TIAGO e SILVA, 2007), os demais são conhecidos como saprofíticos decompositores de matéria orgânica.

Na Tabela 15 são apresentados os valores da análise da variância para as variáveis porcentagem de plântulas contaminadas com *Fusarium* (Fus), *Rhizoctonia* (Rhi) e

*Trichoderma* (Tri), nos viveiros SP e AR. Observa-se que somente a variável Tri apresentou significância no viveiro SP. As populações de *Rhizoctonia* (Rhi) e total de fungos (Tot) apresentaram efeito significativo no viveiro AR.

**Tabela 15** – Análise da variância para as variáveis: porcentagem de plântulas contaminadas com *Fusarium* (**Fus**), *Rhizoctonia* (**Rhi**) e *Trichoderma* (**Tri**), em dois experimentos.

| Causa da variação  | Fus   |     |     | Rhi    |     |     | Tri    |     |     |
|--------------------|-------|-----|-----|--------|-----|-----|--------|-----|-----|
|                    | QM    | Fc  | Ft  | QM     | Fc  | Ft  | QM     | Fc  | Ft  |
| <b>Viveiro SP</b>  |       |     |     |        |     |     |        |     |     |
| <b>Blocos</b>      | 0,024 | 0,1 | 5,1 | 0,043  | 0,0 | 5,1 | 0,080  | 0,1 | 5,1 |
| <b>Tratamentos</b> | 0,236 | 1,4 | 4,8 | 0,943  | 0,8 | 4,8 | 7,431* | 5,3 | 4,8 |
| <b>Resíduo</b>     | 0,174 |     |     | 1,244  |     |     | 1,413  |     |     |
| <b>CV (%)</b>      | 4,27  |     |     | 19,99  |     |     | 34,43  |     |     |
| <b>Viveiro AR</b>  |       |     |     |        |     |     |        |     |     |
| <b>Blocos</b>      | 0,021 | 1,0 | 5,1 | 0,484  | 0,5 | 5,1 | 0,263  | 0,3 | 5,1 |
| <b>Tratamentos</b> | 0,021 | 1,0 | 4,8 | 5,964* | 5,8 | 4,8 | 9,316* | 9,8 | 4,8 |
| <b>Resíduo</b>     | 0,021 |     |     | 1,033  |     |     | 0,950  |     |     |
| <b>CV (%)</b>      | 1,46  |     |     | 23,27  |     |     | 35,62  |     |     |

Onete: \* = Efeito significativo a 5% de probabilidade de erro; QM = Quadrado médio; Fc = distribuição F calculado; Ft = distribuição F tabelado; CV = coeficiente de variação.

Na Tabela 16 pode-se observar a comparação de médias entre tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Em todos os tratamentos e, em ambos os experimentos, foi constatada contaminação por *Fusarium* (Fus) em mais de 80% das plântulas, mostrando que a aplicação dos tratamentos não foi eficiente no controle do patógeno. No viveiro SP, a contaminação por *Rhizoctonia* (Rhi) não teve diferença estatística entre tratamentos, apresentando em torno de 30% das plantas contaminadas, já no viveiro AR, esta variável teve efeito significativo, sendo o menor valor observado no tratamento com aplicação de Captan SC<sup>®</sup> (6,7%), seguido pelo Agrotich<sup>®</sup> (13,3%) e Trichodel<sup>®</sup> (20%). O tratamento testemunha apresentou o maior valor, 36,7% das plântulas contaminadas pelo patógeno.

A variável Tri, em ambos os viveiros teve efeito significativo, sendo o maior valor observado no tratamento com aplicação de Agrotich<sup>®</sup>, porém, em baixas porcentagens, 23,3% no viveiro SP e 26,7% no viveiro AR (Tabela 16 e Apêndice 12).

**Tabela 16** – Comparação entre médias dos tratamentos para as variáveis: porcentagem (%) de plântulas contaminadas com *Fusarium* (**Fus**), *Rhizoctonia* (**Rhi**) e *Trichoderma* (**Tri**), em dois experimentos.

| Trat.                         | Variáveis |        |       |
|-------------------------------|-----------|--------|-------|
|                               | Fus       | Rhi    | Tri   |
| <b>Viveiro SP</b>             |           |        |       |
| <b>Agrotrich</b> <sup>®</sup> | 93,3      | 23,3   | 23,3a |
| <b>Trichodel</b> <sup>®</sup> | 86,7      | 26,7   | 20,0a |
| <b>Captan SC</b> <sup>®</sup> | 93,3      | 36,7   | 3,3b  |
| <b>Testemunha</b>             | 93,3      | 33,3   | 3,3b  |
| <b>CV (%)</b>                 | 1,5       | 23,2   | 35,6  |
| <b>Viveiro AR</b>             |           |        |       |
| <b>Agrotrich</b> <sup>®</sup> | 96,7      | 13,3ab | 26,7a |
| <b>Trichodel</b> <sup>®</sup> | 100,0     | 20,0ab | 0,0b  |
| <b>Captan SC</b> <sup>®</sup> | 100,0     | 6,7b   | 3,3b  |
| <b>Testemunha</b>             | 100,0     | 36,7a  | 3,3b  |
| <b>CV (%)</b>                 | 4,3       | 20,0   | 34,4  |

Médias não seguidas de mesma letra diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Além de *Fusarium* e *Rhizoctonia*, foi constatada a presença dos fungos *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Verticillium* e *Trichotecium* associados às plântulas, nenhum destes relatado como potencial causador de moléstias à erva-mate. Neste caso, é importante ressaltar que a presença destes fungos, mesmo após a desinfestação com álcool e hipoclorito, mostra que eles podem estar associados aos tecidos internos das plântulas, ou o método de desinfestação não foi eficiente, ou também houve contaminação durante o plaqueamento.

Previamente a contagem da densidade de plântulas e a medição da altura da parte aérea, ambos os experimentos foram seriamente atacados pelo tombamento-de-plântulas (damping-off) e, os viveiristas, tentando salvar algumas plântulas, repicaram-nas para as embalagens, prejudicando assim, a avaliação destas variáveis. Segundo relato dos viveiristas, neste ano (ciclo de viveiro referente a 2009-2010), as condições climáticas foram mais favoráveis ao surgimento de doenças que em outros anos, provocando uma maior mortalidade de plântulas. Outro aspecto que se deve considerar é que, mesmo com alta incidência de *Fusarium* e *Rhizoctonia* nas sementes em processo estratificação (Figura 8, item 4.2.2), foi observada uma boa germinação (Apêndice 13), indicando que o principal dano destes patógenos, no período de viveiro, ocorre na fase de plântula.

As condições climáticas sob efeito do “El niño”, que causa chuvas acima da média, pode ser a explicação da falta da eficiência dos tratamentos, favorecendo demasiadamente o desenvolvimento dos patógenos. Além disso, a grande população de patógenos presente, internamente às sementes e no substrato, pode prejudicar o efeito dos tratamentos da forma como foram aplicados.

Embora não tenha proporcionado controle efetivo de *Fusarium* e *Rhizoctonia*, pode-se observar, em função dos resultados obtidos, que a aplicação dos produtos Agrotrich® e Trichodel® nas sementes, proporcionou o estabelecimento de uma boa população de *Trichoderma* no substrato, em comparação com os valores observados para o tratamento testemunha (Tabela 14). Segundo Mariano et al. (2005), a introdução de microrganismos adaptados ao microhabitat do patógeno é um dos aspectos mais relevantes para o sucesso de um programa de controle biológico de doenças de plantas. Nesse contexto, diversos microrganismos são isolados, selecionados e utilizados como agentes biocontroladores de doenças, mas, para serem ideais para o biocontrole, é necessário que possuam uma ou mais das seguintes características: boa capacidade de colonização e competitividade no ambiente do patógeno; requerimentos nutricionais semelhantes ao do patógeno; adaptação ao meio ambiente do patógeno; resistência a fatores ambientais; sobrevivência, persistência e capacidade de redistribuição; entre outras.

Além disso, as diferenças nos resultados observados nas variáveis, em cada tratamento (Tabela 14 e 16), indicam que existem variações – microbiota e composição química e física do substrato, microclima do viveiro, etc. – que influenciam no resultado final de cada tratamento.

Menezes (2007) observou, na cultura de crisântemo, que isolados de *Trichoderma* coletados no próprio local de cultivo, foram mais eficientes no controle da severidade da murcha-de-fusarium, causada por *F. oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, do que formulações comerciais à base de *Trichoderma*.

No manejo integrado, o tratamento sanitário de sementes é considerado uma das medidas mais recomendadas por controlar doenças na fase que antecede a implantação da cultura, possibilitando um menor uso de defensivos químicos, evitando problemas graves de poluição do ambiente (MACHADO, 2000), no entanto, há uma carência de estudos sobre qual produto deve ser usado, que momento é o melhor para aplicar, etc., para diferentes patógenos e tipos de sementes.

O uso de bioprotetores (microbiolização) é uma forma alternativa ao tratamento químico de sementes, com baixo custo e menor agressividade ao ambiente. A microbiolização é definida como a aplicação de microrganismos vivos às sementes para o controle de doenças e/ou para promover o crescimento de plantas (MELO, 1996). Trata-se de um sistema ideal de introdução de bioprotetores para o controle de doenças das sementes, do tombamento, da morte de plântulas e das podridões radiculares. Neste sentido, o gênero *Trichoderma* tem sido



considerado eficiente no controle de fungos fitopatogênicos e na promoção de crescimento de plantas (ETHUR et al., 2006).

Ethur et al (2006), comparando tratamentos químico e biológico (bioprotetor) no tratamento de sementes, observaram que o tratamento químico controlou 100% dos fungos em sementes de Aveia e o tratamento com o bioprotetor Agrotich<sup>®</sup> não teve o mesmo efeito. Porém, no tratamento de sementes de Centeio e Nabo-forrageiro, o Agrotich<sup>®</sup> controlou 100% dos fungos, evidenciando a necessidade de aprimorar os estudos em cada espécie e tipo de semente.

Estratégias de manejo de doenças de sementes e patógenos associados a sementes visam a prevenção da contaminação ou procedimentos para reduzir a contaminação. O tipo do patógeno e o agente causal determinam a aplicabilidade de várias técnicas de manejo. Geralmente, um único método poderia promover o controle completo de algumas doenças, entretanto, a integração de várias técnicas de manejo é mais apropriada. Para alguns patossistemas, poucas informações estão disponíveis sobre a biologia do patógeno e a epidemiologia da doença que ele causa, o que dificulta a recomendação de técnicas de prevenção e controle destas (CRAM e FRAEDRICH, 2009).

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições de desenvolvimento deste estudo, pode-se concluir que:

- Não foi possível correlacionar a severidade da podridão-de-raízes com as características de manejo e cultivo dos ervais.
- A matéria orgânica do solo é a variável que mais se correlaciona à população de *Fusarium* do solo.
- Há alta incidência de *Fusarium* e *Rhizoctonia* em flores, frutos e sementes de erva-mate.
- As técnicas de colheita, beneficiamento e estratificação de sementes adotadas pelos viveiristas, propiciam o aumento do inóculo dos patógenos.
- Nos dois meses de condução, não foi possível observar resultados conclusivos nos testes de patogenicidade de isolados de *Fusarium*.
- O isolado SP-SFE-T1 de *Trichoderma* apresenta alta capacidade antagonista ao *Fusarium* em testes *in vitro*.
- Os tratamentos químico e biológico não são eficientes no controle da podridão-de-raízes e do “damping-off” em sementeiras de erva-mate.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há uma grande variabilidade nas características de manejo e cultivo dos ervais estudados, o que dificulta o entendimento dos fatores que influenciam no patossistema, bem como quais as medidas de manejo e de controle que poderiam ser adotadas.

Nos viveiros, a desuniformidade nas características do substrato, principalmente quanto às suas características químicas, muitas vezes com teores de nutrientes bem acima do recomendado, pode contribuir para a predisposição de mudas às doenças.

Embora não obtendo respostas conclusivas a respeito dos fatores que afetam o patossistema podridão-de-raízes – erva-mate, a análise de Trilha é uma ferramenta importante na análise conjunta de diversas variáveis e seus efeitos diretos e indiretos sobre esse patossistema.

As elevadas contaminações de frutos, sementes, mudas e substrato, por patógenos do sistema radicular, constituem fortes indícios de que estes são as fontes de inóculo da doença em viveiro e a campo. Portanto, medidas relacionadas ao manejo integrado de doenças devem ser empregadas para diminuir a contaminação, como a adoção de uma nova técnica de beneficiamento e de estratificação das sementes, realização de tratamento de sementes antes da estratificação, utilização de substrato livre de patógenos, realização de análise sanitária das mudas por um profissional habilitado, antes de serem levadas para o campo, entre outras.

A seleção de isolados de *Trichoderma*, coletados nos locais do patossistema podridão-de-raízes – erva-mate (nos viveiros e em ervais), através da técnica de pareamento de culturas (*in vitro*), mostra que há isolados muito eficientes no biocontrole de *Fusarium*, entretanto, para a multiplicação e aplicação massal destes, são necessários estudos *in vivo* para que se comprovem a sua real eficiência.

Como os tratamentos (químico e biológico) testados não são satisfatórios para o controle de *Fusarium* e *Rhizoctonia*, sugere-se que novos estudos sejam realizados com a aplicação destes produtos no início da estratificação, tentando antecipar o controle para um período em que as sementes estejam menos infestadas.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADL, S. M. **The ecology of soil decomposition**. 4. ed. London: CABI Publishing, 2003. 335 p.

AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 1996. 539 p.

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 2005. 922 p.

ALTHAUS, R. A.; CANTERI, M. G.; GIGLIOTI, E. A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott, Parte 1. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10., 2001, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa, 2001. p. 280-281

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. p. 838-847.

ANDRADE, F. M. de. A exploração e utilização do recurso *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate), seus impactos sócio-econômicos atuais e potencialidades de manejo sustentável. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE RECURSOS FLORESTAIS DA MATA ATLÂNTICA, 1., 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Horto Florestal, 1999, p. 24-33.

ANDRADE, G. C. G. et al. Características culturais e severidade da mancha foliar de *Quambalaria eucalypti* sob diferentes regimes de temperatura, luz e período de molhamento foliar. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 329-334, 2007.

ANGHINONI, I.; BISSANI, C. A. Fósforo e adubos fosfatados. In: BISSANI, C. A. et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênese, 2004. p. 117-138.

ANJOS, J. de R. N. dos; CHARCHAR, M. J. d'ÁVILA. **Patogenicidade de isolados de *Fusarium sacchari* de Mangueira do Cerrado do Brasil Central**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 14 p. (Documentos 180)

ARAÚJO, E. R. **Qualidade fisiológica, etiológica e patogenicidade de fungos assinalados em sementes de aroeira produzidas em três municípios da Paraíba**. 2008, 44 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2008.

ÁVILA, A. L. de. et al. Maturação fisiológica e coleta de sementes de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga), Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 1, p. 61-68, 2009.

ÁVILA, A. L. et al. Avaliação da qualidade sanitária de frutos e sementes de Araticum-salso (*Rollinia salicifolia* Schlecht.) coletadas no município de Santa Maria-RS. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8., 2004, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 2004, p. 146.

AZEVEDO, F. A. de. et al. Controle químico de *Colletotrichum acutatum* em Laranja-doce-barão. **Laranja**, v. 29, n. 1-2, p. 23-34. 2008.

BAILEY, K. L.; LAZAROVITS, G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. **Soil & Tillage Research**, v. 72, p. 169-180, 2003.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do sul**: guia de identificação e interesse ecológico. Santa Cruz do Sul: Programa Clube da Árvore – Instituto Sousa Cruz, 2002, 325 p.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Minnesota: American Phytopathology Society, 1999. 218 p.

BARROWS-BROADDUS, J.; DWINELL, L. D. Branch dieback and cone and seed infection caused by *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subgrutinans* in a Loblolly-pine seed orchard in South Carolina. **Phytopathology**, v. 75, n. 10, p. 1104-1108, 1985.

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, v. 72, p. 379-382, 1982.

BENETTI, S. C. et al. Levantamento de fungos em sementes de Cedro e avaliação da patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 81-85, 2009.

BERGAMIN FILHO, A. Epidemiologia: conceitos e objetivos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. p. 540-553.

BETTIOL, W; GHINI, R. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. p. 717-728.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Pesquisas Pedológicas. **Levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Rio Grande do Sul**. Recife: MA/DPP-AS/DRNR, 1973. 431 p.

BRESSAN, R. A. Fisiologia do estresse. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (Eds.). **Fisiologia Vegetal**, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 613-643.

CARDOSO FILHO, J. A.; MINHONI, M. T. de A. Interações microbianas e controle de fitopatógenos na rizosfera. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S dos S. **Microbiologia do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, p. 239-254. 2007.

CARNEIRO, J. G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.

CARNEIRO, J. S. Qualidade sanitária de espécies florestais em Paraopeba – MG. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, s/n, p. 75-76, 1990.

CARNEIRO, J. S. Microflora associada a sementes de essências florestais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, s/n, p. 557-556, 1986.

CARTER, M. R. **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1993. 631 p.

CARVALHO, F. I. F; LORENCETTI, C.; BENIN, G. **Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal**. Pelotas: UFPel, 2004. 142 p.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; MOREIRA, É. N. Transmissão de fungos em sementes de cereais de inverno e milho: implicações epidemiológicas. In: ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV; DFP, 2005. p. 55-74.

CECONI, D. E. et al. Exigência nutricional de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) à adubação fosfatada. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 1, p. 25-32. 2007.

CHEROBINI, E. A. I. **Avaliação da qualidade de sementes e mudas de espécies florestais nativas**. 2006. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

CONTO, A. J. A estrutura da produção da erva-mate na região sul. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3., 2000, Encantado. **Anais...** Porto Alegre: Edição dos organizadores, 2000, p. 210-214.

CRAM, M. M.; FRAEDRICH, S. W. Seed diseases and seedborne pathogens of North America. **Tree Planters's Notes**, v. 53, n. 2, p. 35-44. 2009.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. 579 p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes – versão Windows**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.

DAVIS, J. R. et al. *Verticillium* wilt of potato: a model of key factors related to disease severity and tuber yield in southeastern Idaho. **American Journal of Potato Research**. v. 78, p. 291–300, 2001.

DINGRA, O. D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: ZAMBOLIM, L. **Sementes**: qualidade fitossanitária. Viçosa: UFV; DFP, 2005. p. 55-74.

ELAD, Y.; CHET, I.; HENIS, Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 28, p. 719-725, 1982.

ETHUR, L. Z. et al. Sanidade de sementes e emergência de plântulas de nabo forrageiro, aveia preta e centeio submetidas a tratamentos com bioprotetor e fungicida. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 2, p. 17 – 27. 2006.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro**. 2006. 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FERNANDES, M. R. **Manual para Laboratório de Fitopatologia**. Passo Fundo – RS: EMBRAPA – CNPT, 1993. 128 p.

FERREIRA, J. B. F.; ABREU, M. S. de; PEREIRA, I. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos de *Coffea arabica* L. em diferentes estádios fisiológicos e tecidos do fruto maduro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 4, p. 880-885. 2005.

FERREIRA, S. A.; BOLEY, R. A.; **Coffee Berry disease (*Colletotrichum coffeanum*)**. Disponível em: <[www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/c\\_coffe.htm#HOSTS](http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/c_coffe.htm#HOSTS)>. Acesso em: 20 de jun. 2010.

FRY, W. E. **Principles of plant disease management**. New York: Academic Press, 1982. 377 p.

GOMES, N. S. B. et al. Patogenicidade de *Colletotrichum acutatum* em folhas destacadas de erva-mate. **Boletim de Pesquisas Florestais**, n. 43, p. 151-154, 2001.

GRAHAM, J. H.; LINDERMAN, R. J. Pathogenic seedborne *Fusarium oxysporum* from Douglas-fir. **Plant Disease**, n. 67, p. 323-325, 1983.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C. G. Podridão de raízes em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) causada por *Fusarium* sp. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 572, 2001. (Suplemento)

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SANTOS, A. F. dos; AUER, C. G. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, 2000. 200 p. (ed. especial)

GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C. G.; MASCHIO, L. M. A. Doenças em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill) na região sul do Brasil. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 32/33, p. 43-51, 1996.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p.190-194, 2006.

HOEFNAGELS, M. H.; LINDERMAN, R. G. Biological suppression of seedborne *Fusarium* spp. during cold stratification of Douglas-fir seeds. **Plant Disease**, v. 83, n. 9, p. 845-852, 1999.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, 2003.

HUBER, D. M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Eds.). **Plant pathology: an advanced treatise**. New York: Academic Press, 1980. p. 381-406.



HUBER, D. M.; THOMPSON, I. A. Nitrogen and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Paul-USA: APS, 2007. p. 31-44.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **O Brasil estado por estado**. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rs&tema=lavourapermanente2008>>. Acesso em: 23 de jun. 2010.

JONES, J. B.; HUBER, D. M. Magnesium and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Eds) **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Paul-USA: APS, 2007. p. 95-100.

KIMATI, H.; BERGAMIN FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. p. 692-709.

LIMA, C. B. de et al. Incidência de fungos fitopatogênicos em Sementes de *Jacaranda spinosa* (Aubl.) A. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1520-1524, 2009. (Resumos do VI CBA e II CLAA)

LOPES, S. J.; RIGÃO, M. H. **Análise de trilha**. Santa Maria: UFSM/Departamento de Fitotecnia, 2006. 29 p. (Caderno Didático)

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352 p.

LUZ, E. D. M. N. et al. **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Campinas: Livraria e Editora Rural, 2001. 754 p.

LUZ, W. C. Manejo integrado de doenças de trigo no século XXI. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, S. 101-109, 2003. (Suplemento)

MACCARI JUNIOR, A. et al. Indústria ervateira no estado do Paraná – fornecimento de matéria-prima. **Revista Acadêmica**, v. 4, n. 1, p. 63-70, 2006.

MACHADO, J. da C. Patologia de sementes: significado e atribuições. In: CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. (Eds) **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000. p. 522-570.

MACHADO, J. da C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Epidemiologia de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ABDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds) **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 209-246.

MANDEEL, Q.; BEKER, R. Mechanisms involved in biological control of Fusarium-wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. **Phytopathology**, v. 81, p. 462-569, 1991.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A. Controle biológico de doenças radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ABDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds) **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 303-322.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2nd ed., New York: Academic Press, 1995. 889 p.

MARTINS-CORDER, M. P.; MELO, I. S. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agrícola**, v. 55, p. 1-7, 1998.

MELLONI, R. Quantificação microbiana da qualidade do solo. In: SILVEIRA, A. P. P. D. da; FREITAS, S. dos S. (Eds) **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p. 193-218.

MELO, I. S. de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. (Eds) **Controle Biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p. 17-67.

MELO, I. S. de. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 261-295. 1996.

MENDES, S. S. et al. Levantamento, patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, p. 118-122, 2005.

MENEZES, J. P. **Caracterização populacional e molecular, e seleção de *Trichoderma* spp. para biocontrole de *Fusarium* sp. em crisântemo**. 2007. 133 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

MEURER, E. J.; INDA Jr, A. V. Potássio e adubos potássicos. In: BISSANI, C. A. et al. (Eds) **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênese, 2004. p. 139-152.

MICHAILIDES, T. J.; ELMER, P. A. G. Botrytis gray mold of kiwifruit caused by *Botrytis cinerea* in the United State and New Zealand. **Plant Disease**, v. 84, n. 3, p. 208-223, 2000.

MORAL, J.; OLIVEIRA, R. de; TRAPEDO, A. Elucidation of the disease cycle of Olive Anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v. 5, n. 5, p. 548-556, 2009.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; GHINI, R. Situação do controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: VENZON, M.; JÚNIOR, T. J. de P.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM/UFV, 2005. p. 247-267.

MORENO, J. A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1961. 41p.

MUNIZ, M. F. B.; SILVA, L. M. e; BLUME, E. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 140-146, 2007.

NETTO, D. A. M.; FAIAD, M. G. R. Variabilidade de sementes de espécies florestais. **Revista Brasileira de sementes**, v. 17. n. 1, 1995. p. 75-80.

PARADELA FILHO, O. et al. **O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro**. Campinas: IAC, 2001. 11 p. (Boletim técnico, 191).

POLETTO, I.; CECONI, D. E.; MUNIZ, M. F. B. Ocorrência de *Fusarium* sp. causando mortalidade de mudas de erva-mate em viveiro na região alta do Vale do Taquari, RS. In: SEMINÁRIO SOBRE REFLORESTAMENTO E RECUPERAÇÃO AMBIENTAL: ambiente e tecnologia: o desenvolvimento sustentável, 2005, Lajeado. **Anais...** Lajeado: UNIVATES, 2005. p. 126-132.

POLETTO, I. **Nutrição, sombreamento e antagonismo biológico no controle da podridão-de-raízes da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008

POLETTI, I. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* e níveis de sombreamento na erva-mate: influência na severidade da podridão-de-raízes. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 3, p. 267-278, 2009.

POLETTI, I. et al. Primeira ocorrência de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. causando podridão-de-raízes em ervais no Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 1, p. 65-71, 2007.

POLETTI, I. et al. Zoneamento e identificação de *Fusarium* spp. causador de podridão-de-raízes em plantios de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) na região do Vale do Taquari-RS. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2006a.

POLETTI, I. et al. Análise fitopatológica de sementes e mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em viveiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 39. 2006, Salvador. **Anais...** Salvador: Fitopatologia Brasileira/SBF, 2006b. p. 149. v. 31 (Suplemento).

PRABHU, A. S. et al. Phosphorus and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Eds) **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Paul-USA: APS, 2007a. p. 45-55.

PRABHU, A. S. et al. Potassium and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Eds) **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Paul-USA: APS, 2007b. p. 57-78.

REGO, S. S. et al. Fungos associados a frutos e sementes de Capororoca (*Myrcine ferruginea* Spreng) Myrsinaceae. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 87-90, 2009.

REGO, S. S. et al. Fungos associados a frutos e sementes de imbuia (*Ocotea porosa* Ness. L. Barroso). **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 4, p. 378, 2008.

RIDOUT, C. J.; COLEY-SMITH, J. R.; LYNCH, J. M. Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein induced in *Trichoderma* spp. by cell walls of *Rhizoctonia solani*. **Journal General Microbiology**, v. 132, p. 2345-2352, 1986.

RICCI, M. dos S. F. **A importância da matéria orgânica para o Cafeeiro**. Disponível em: <[www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/artigos/mat\\_org\\_cafeeiro.html](http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/artigos/mat_org_cafeeiro.html)>. Acesso em: 02 de julho de 2010.

RODRIGUES, J. *Trichoderma* spp. associado a níveis de adubação NPK no patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* – feijoeiro. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

ROTTA, E.; OLIVEIRA, Y. M. de. **Cultivo da erva-mate – Distribuição geográfica.** Disponível em: <[www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate](http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate)>. Acesso em: 13 dez. 2007.

SANTOS, A. F. dos; MEDEIROS, A. C. de S.; SANTANA, D. L. de Q. Fungos associados às sementes de espécies arbóreas da mata Atlântica. **Boletim de Pesquisas Florestais**, n. 42, p. 57-70, 2001.

SANTOS, A. F. dos; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C. G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1-2, p. 119-128, 2000.

SANTOS, M. de F. et al. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba (*Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, p. 1-6. 1998.

SILVA, L. S.; CAMARGO, F. A. de O.; CERETTA, C. A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, E. G. **Fundamentos de química do solo**. 2. ed. Porto Alegre: Gênese, 2004. p. 73-99.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS; Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004. 394 p.

STEEL, R. G. D. et al. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3. ed. New York: McGraw Hill Book, 1997. 666 p.

STRECK, E. V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS; UFRGS 2002. 126 p.

TANAKA, M. A. S. Técnicas auxiliares em laboratório de patologia de sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. da S. (Eds) **Patologia de sementes**. São Paulo: Fundação Cargill, 1987. 480 p.

TIAGO, P. V.; SILVA, R. J. da. Atividade proteolítica de isolados de *Metarhizium anisopliae* sobre substratos cuticulares e não-cuticulares. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 26-30. 2007.

TEDESCO, M. J.; BISSANI, C. A. Acidez do solo e seus efeitos nas plantas. In: BISSANI, C. A. et al. (Eds) **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênese, 2004. p. 75-92.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

VEZZANI, F. M. et al. Matéria orgânica e qualidade do solo. In: SANTOS, G. de A. et al. **Fundamentos da matéria orgânica do solo**. 2 ed. Porto Alegre: Metropole, 2008. 654 p.

WIELEWSKI, P.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Levantamento de doenças em Ipê-amarelo (*Tabebuia chrysatricha*) em Curitiba, PR. **Floresta**, v. 32, n. 2, p. 277-281, 2002.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F. X. R. do. Efeito da nutrição mineral sobre doenças de plantas causadas por patógenos de solo. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: UFV, 2001. p. 347-403.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. In: LUZ, W. C da (Ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, v. 1, 1993. p. 275-318.

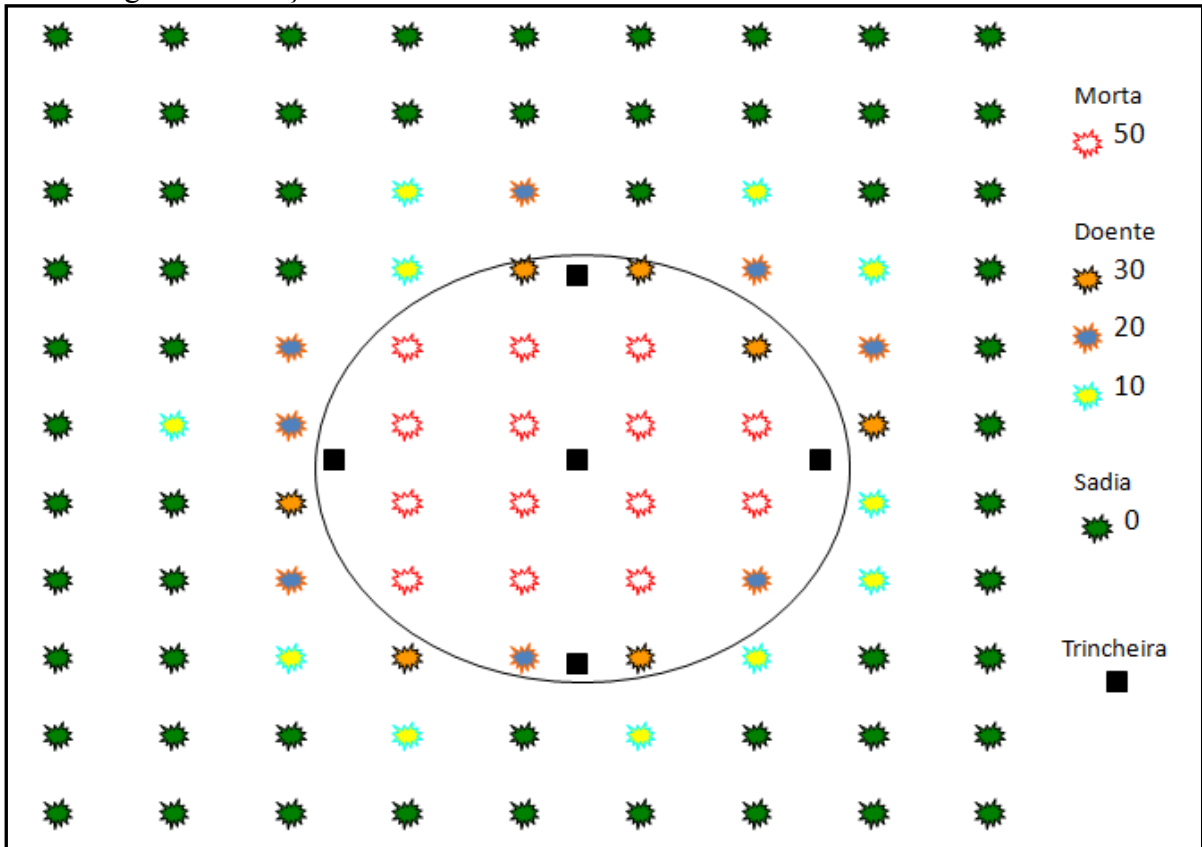
# APÊNDICES

**Apêndice 1** – Ficha de identificação e coleta de dados aplicada aos proprietários de ervais.

| <b>Projeto doutorado: coleta de dados de campo</b> |   |             |
|--|---|-------------|
| Propriedade: _____                                 | Sigla: _____  | Data: _____ |
| Cidade: _____                                      | Localidade: _____   |             |
| <b>Material coletado:</b>                          |   |             |
| <input type="checkbox"/>                           | Solo para análise química – _____                               |             |
| <input type="checkbox"/>                           | Solo para análise biológica – _____                             |             |
| <b>Questionário:</b>                               |   |             |
| 1-   | Qual a idade do erval? .....                                    |             |
| 2-   | Que tipo de adubação é aplicada? .....                          |             |
| 3-   | Há quantos anos ocorre os sintomas da doença? .....             |             |
| 4-   | Qual o espaçamento de plantio? .....                            |             |
| 5-   | Que tipo de controle de inço? .....                             |             |
| 6-   | Qual a intensidade de podas? .....                              |             |
| 7-   | Qual é a época da principal poda? .....                         |             |
| 8-   | O erval é ou foi consorciado com alguma cultura agrícola? ..... |             |
| <b>Avaliação da doença:</b>                        |   |             |
| •  | Número de plantas mortas: _____                                 |             |
| •  | Número de plantas com sintomas fracos: _____                    |             |
| •  | Número de plantas com sintomas moderados: _____                 |             |
| •  | Número de plantas com sintomas fortes: _____                    |             |



**Apêndice 2** – Representação do erval com sintomas de podridão-de-raízes em reboleira e metodologia de avaliação.



**Apêndice 3** – Descrição dos produtos comerciais utilizados nos experimentos descritos no item 3.4.

TRICHODEL<sup>®</sup> é um produto biológico composto de linhagens selecionadas do fungo *Trichoderma* spp., que inibem o desenvolvimento de fungos patogênicos presentes no solo e sobre as plantas. Está disponível nas formulações  $1 \times 10^9$  de células viáveis por g (Pó), e  $1 \times 10^9$  de células viáveis por mL (Líquido - não oleoso). Com alta eficiência preventiva e corretiva sobre diferentes fungos, de fácil manuseio para aplicação, garantindo uma cobertura uniforme e de alto padrão, apresenta estruturas vivas do *Trichoderma* spp., que estimulam a germinação e o crescimento das plantas. É um componente natural encontrado no solo, que apresenta uma importante função ecológica, pois participa na decomposição e mineralização dos resíduos vegetais, contribuindo para a disponibilização de nutrientes para as plantas. Além disso, é naturalmente um biofungicida, que reduz em até 80% as chances de fungos fitopatogênicos danificarem a plantação. Informações adquiridas no site:

[http://www.eccb.com.br/culturas\\_tratadas.php](http://www.eccb.com.br/culturas_tratadas.php)

AGROTRICH PLUS<sup>®</sup> trata-se de um composto biológico composto pelo fungo *Trichoderma* sp. na quantidade de  $10^8$  UFCs  $g^{-1}$  de produto e farinha de arroz qsp 1,0 kg, na forma de pó seco. Atua como auxiliar no controle de doenças causadas por fungos presentes no solo, proporcionando às plantas um desenvolvimento mais sadio e vigoroso durante todo o seu ciclo. Ele pode ser aplicado via substrato ( $2 g kg^{-1}$  de substrato), via semente (200 a 250 g  $ha^{-1}$  misturado às sementes), via adubo ( $2 kg ha^{-1}$  misturado ao adubo) e via solo ( $2 g m^{-2}$  incorporados superficialmente), podendo ser utilizado nas culturas da soja, milho, feijão, arroz, fumo, hortigranjeiros, flores, pastagens, etc. Informações adquiridas no rótulo da embalagem do produto e no site:

[www.agrihaus.com.br/index1.php?option=content&language=1&menus\\_site\\_id=3](http://www.agrihaus.com.br/index1.php?option=content&language=1&menus_site_id=3).

CAPTAN SC<sup>®</sup> é um fungicida não sistêmico, de ação preventiva, utilizado no controle de doenças fúngicas através da aplicação foliar nas culturas de batata, cebola, maçã, tomate e uva e também no tratamento de sementes para algumas culturas agrícolas, como algodão, milho, soja e feijão no controle dos principais patógenos de solo, como *Fusarium* spp. e *Rhizoctonia solani*. Este produto está registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA sob nº 019083-88. Sua composição: N-(trichloromethyltio)cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide com 48% de ingrediente ativo. Informações obtidas no site do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento:

[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons).

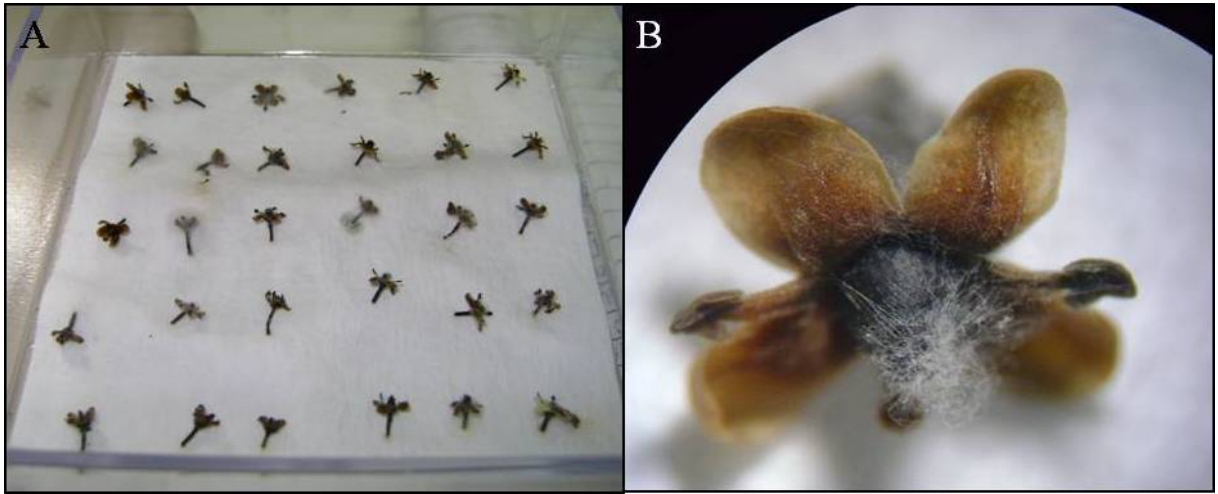
**Apêndice 4** – Croqui do experimento e disposição dos tratamentos na sementeira após o sorteio.

|         |                        |
|---------|------------------------|
| Bloco 1 | <b>T2 - Trichodel</b>  |
|         | <b>T4 - Testemunha</b> |
|         | <b>T1 - Agrotich</b>   |
|         | <b>T3 – Captan SC</b>  |
| Bloco 2 | <b>T1</b>              |
|         | <b>T3</b>              |
|         | <b>T4</b>              |
|         | <b>T2</b>              |
| Bloco 3 | <b>T3</b>              |
|         | <b>T1</b>              |
|         | <b>T2</b>              |
|         | <b>T4</b>              |

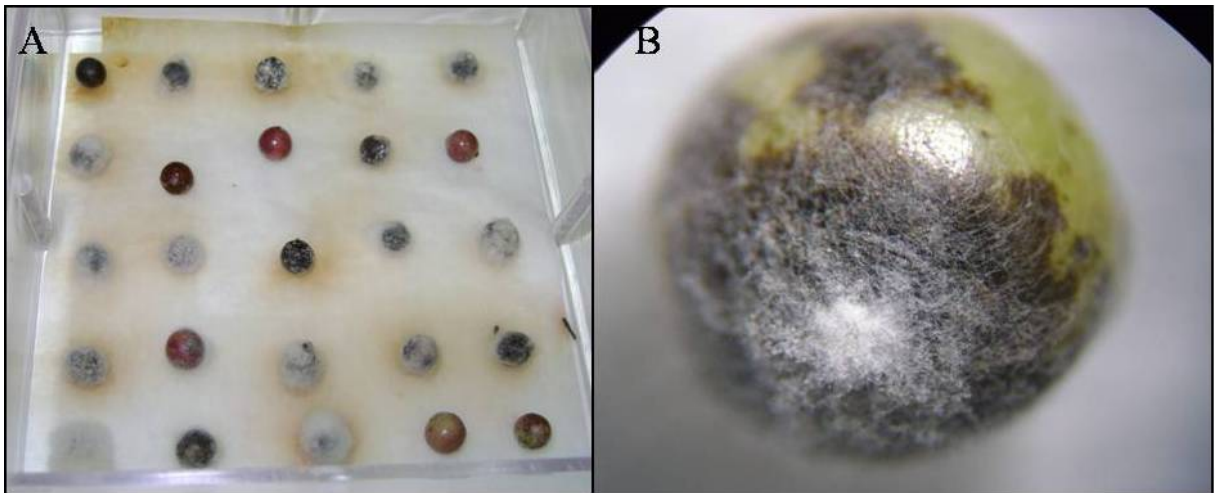
**Apêndice 5** – Detalhes da instalação da sementeira (experimento do viveiro SP).



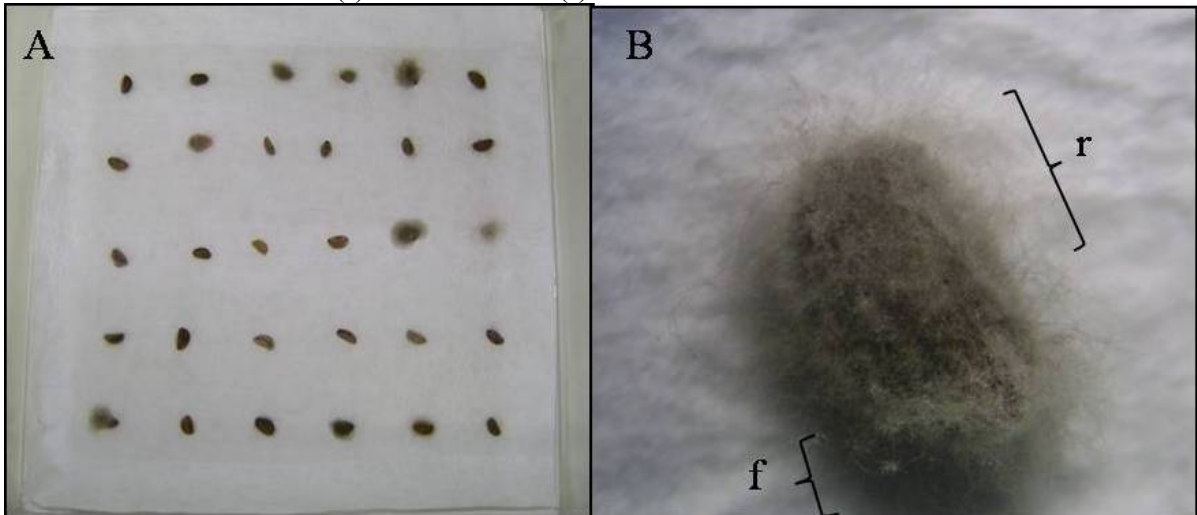
**Apêndice 6** – A = Flores de erva-mate em câmara úmida. B = detalhe da flor com crescimento de *Fusarium*.



**Apêndice 7** – A = Frutos de erva-mate em câmara úmida. B = detalhe do fruto com crescimento de *Fusarium*.

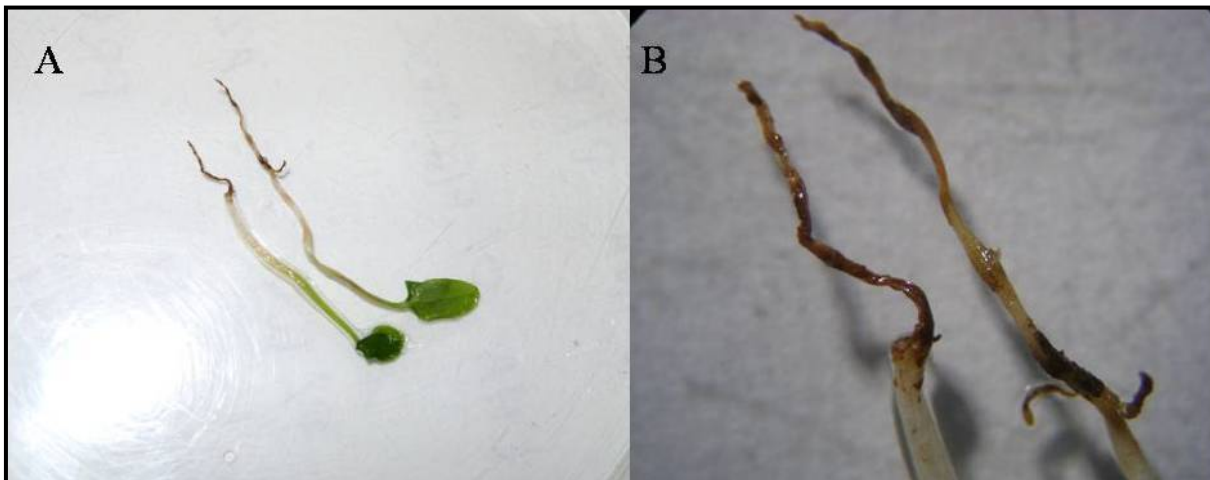


**Apêndice 8** – A = Sementes de erva-mate em câmara úmida. B = detalhe da semente com crescimento de *Fusarium* (f) e *Rhizoctonia* (r).

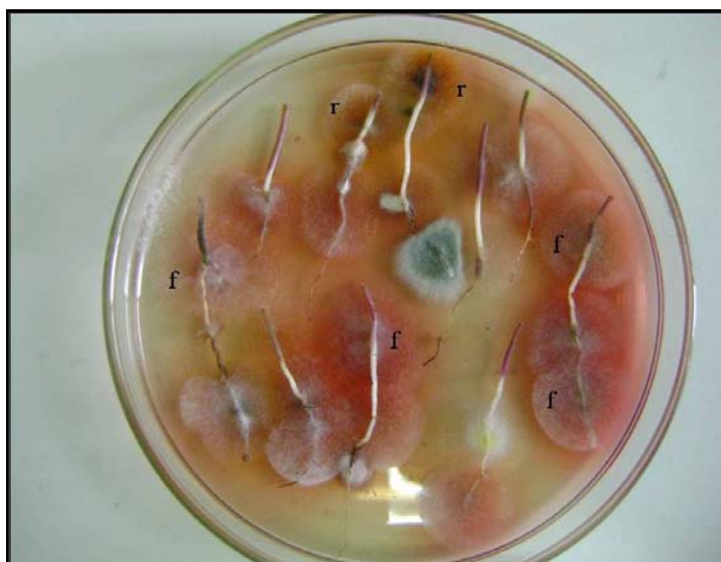




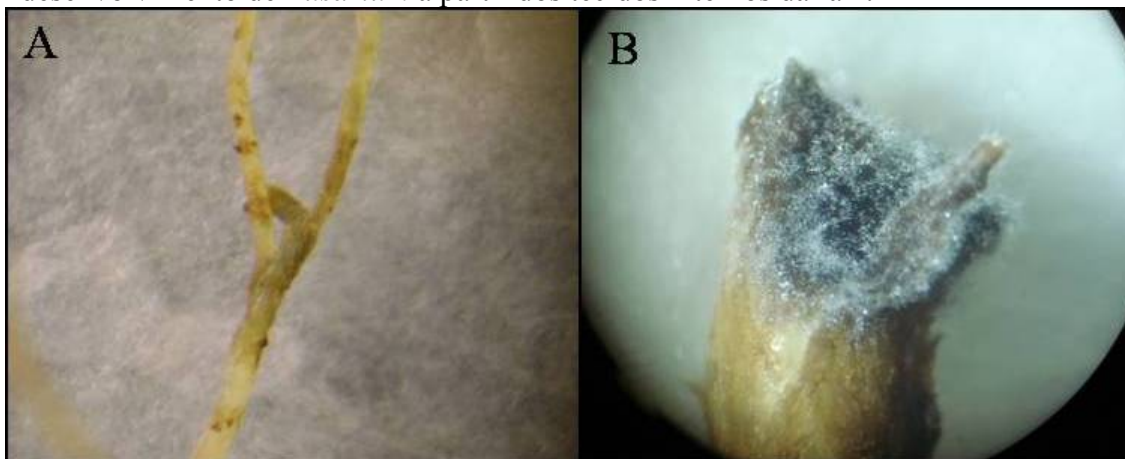
**Apêndice 9** – A = plântulas de erva-mate com podridão-de-raízes. B = detalhe do sistema radicular atacado.



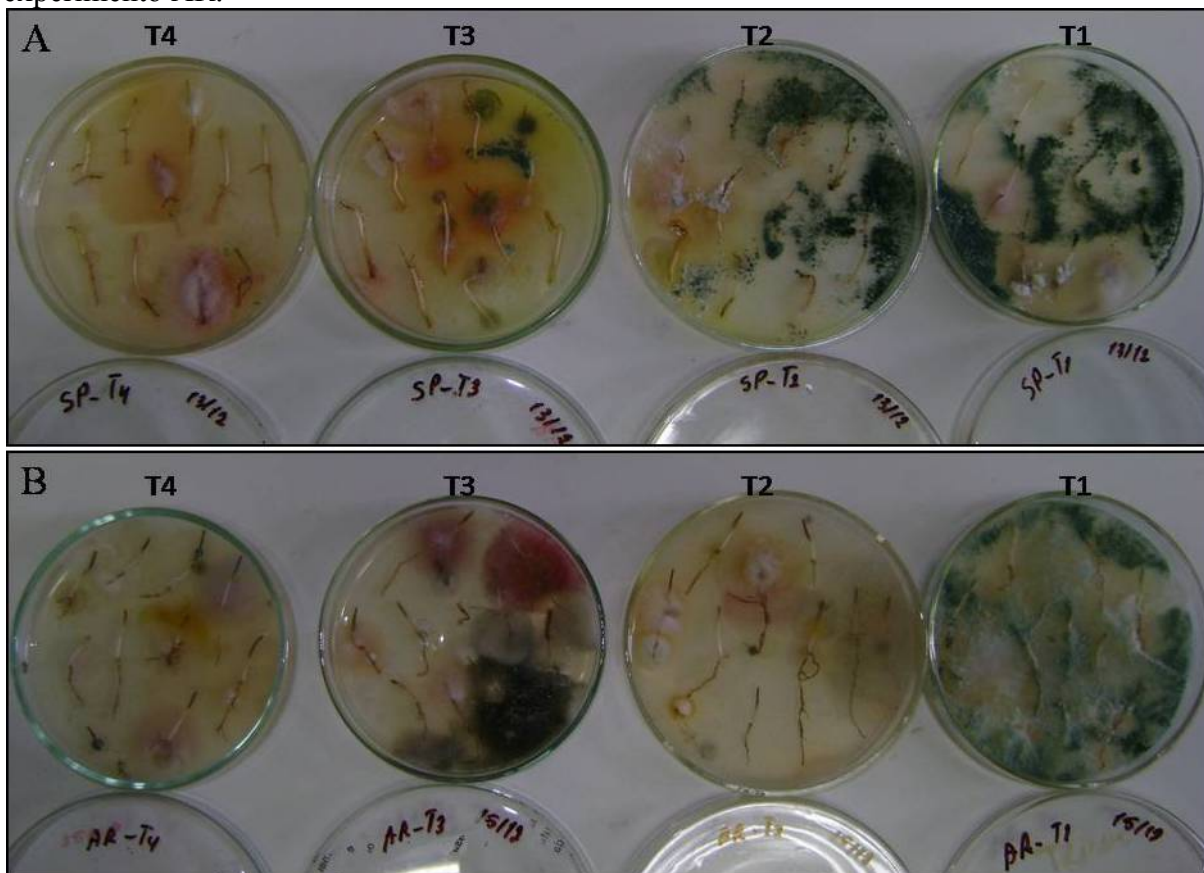
**Apêndice 10** – Plântulas colocadas em placas de Petri com BDA. f = *Fusarium*; e r = *Rhizoctonia*.



**Apêndice 11** – A = detalhe da raiz de muda de erva-mate com sintoma podridão-de-raízes. B = desenvolvimento de *Fusarium* a partir dos tecidos internos da raiz.



**Apêndice 12** – Plântulas colocadas em placas de Petri com BDA. A = plântulas coletadas em cada tratamento do experimento SP. B = plântulas coletadas em cada tratamento do experimento AR.



Onde: T1 = Agrotich<sup>®</sup>; T2 = Trichodel<sup>®</sup>; T3 = Captan SC<sup>®</sup>; T4 = testemunha.

**Apêndice 13** – Detalhe da sementeira (viveiro AR) e da emergência das plântulas.

