

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

**NUTRIÇÃO, SOMBREAMENTO E ANTAGONISMO
BIOLÓGICO NO CONTROLE DA
PODRIDÃO-DE-RAÍZES DA ERVA-MATE
(*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

IGOR POLETTO

**SANTA MARIA, RS, BRASIL
2008**

**NUTRIÇÃO, SOMBREAMENTO E ANTAGONISMO
BIOLÓGICO NO CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-RAÍZES
DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**

por

IGOR POLETTO

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

Orientador: Prof^a. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

**SANTA MARIA, RS, BRASIL
2008**

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

A comissão examinadora, abaixo assinada,
aprova a dissertação de mestrado

**NUTRIÇÃO, SOMBREAMENTO E ANTAGONISMO BIOLÓGICO
NO CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-RAÍZES DA ERVA-MATE
(*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)**

elaborada por
Igor Poletto

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marlove Fátima Brião Muniz, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Elena Blume, Dr^a. (UFSM)

Álvaro Figueredo dos Santos, Dr. (EMBRAPA FLORESTAS)

Santa Maria, 20 de fevereiro de 2008.

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

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Santa Maria através do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao órgão financiador CAPES, pelo apoio financeiro com a concessão da bolsa de mestrado.

À Prof^a. Dr^a. Marlove Fátima Brião Muniz, pela orientação, amizade e apoio prestado para a realização deste trabalho.

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

À banca examinadora, constituída pela Prof^a. Dr^a. Elena Blume e Dr. Álvaro Figueredo dos Santos.

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 minha namorada Denise Ester Ceconi que me acompanhou em todas as etapas deste trabalho, pela atenção, compreensão, incentivo e auxílio. Denise, muito obrigado!

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.

Aos amigos e colegas Silvia, Ricardo, Rosi e Sara, pela grande ajuda prestada.

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 nesses dois anos de curso.

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

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

Universidade Federal de Santa Maria

NUTRIÇÃO, SOMBREAMENTO E ANTAGONISMO BIOLÓGICO NO CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-RAÍZES DA ERVA-MATE

(*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)

AUTOR: IGOR POLETTO

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 20 de fevereiro de 2008.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) 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. Com o aumento da área plantada, sobretudo na última década, os problemas fitossanitários causados por pragas e doenças aumentaram e, dentre estes, a podridão-de-raízes vem se tornando um dos principais. 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. Assim, foram instalados experimentos na área do Viveiro Florestal pertencente ao Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria com o objetivo de confirmar tais hipóteses. O primeiro experimento foi conduzido em um esquema fatorial (4 x 3 x 4) composto pela inoculação de *Fusarium* spp., pela calagem do solo e pela adubação NPK. O segundo experimento foi conduzido em um esquema fatorial (2 x 5), composto pela inoculação de *Fusarium* spp. e por níveis de sombreamento. Além disso, a utilização de bioprotetores comerciais contendo organismos antagonistas ao *Fusarium* spp. tem dado resultados satisfatórios em alguns patossistemas. Portanto, conduziu-se um terceiro experimento, em um esquema fatorial (4 x 4), testando-se a inoculação de *Fusarium* spp. e a eficiência de produtos comerciais para controle biológico. Verificou-se que a calagem do solo, combinada com maiores doses de adubação, comprometeu o desenvolvimento das plantas de erva-mate, além de torná-las mais suscetíveis ao ataque de *Fusarium* spp. A disponibilidade de nutrientes também influenciou a população fúngica do solo. Da mesma forma, plantas submetidas aos menores níveis de sombreamento ou a pleno sol tiveram seu desenvolvimento prejudicado e ficaram mais suscetíveis à doença. A utilização de bioprotetores comerciais não foi eficiente nas condições deste experimento.

Palavras-chave: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, nutrientes, luminosidade, bioprotetores.

ABSTRACT

Master Thesis

Pos-Graduation Program in

Federal University of Santa Maria

NUTRITION, SHADING AND BIOLOGICAL ANTAGONISM IN ROOT-ROT CONTROL OF “ERVA-MATE” (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill)

AUTHOR: IGOR POLETTTO

ADVISER: Prof^a. Dr^a. MARLOVE FÁTIMA BRIÃO MUNIZ

Place and date of the defense: Santa Maria, February 20th, 2008.

The “erva-mate” (*Ilex paraguariensis*) is a species broadly cultivated in southern Brazil and neighboring countries, which leaves and fine branches prepared according to the appropriate method, make the “mate” or “chimarrão”, the most popular tea consumed in Brazil and exported everywhere. With the increasing planted area, mainly in the last decade, fitossanitary problems caused by pest and diseases have increased in this crop and among them, the root-rot is becoming one of the main ones. The disease is caused by *Fusarium* spp., besides *Pythium* sp. and *Rhizoctonia* sp. and, it causes serious damages to the roots, causing, in most serious cases, death of the plant. With the suspicion that the incidence and disease severity are influenced by cultivation methods and management practices, such as mineral fertilizers application without technical criteria or no fertilizers, lime application and “erva-mate” cultivation at full sun, experiments were conducted in the Forest Nursery area belonging to Forest Sciences Department of the Federal University Santa Maria with the objective of confirming these assumptions. The first experiment was conducted in a factorial design (4 x 3 x 4) composed by *Fusarium* spp. inoculation, by lime application and by NPK fertilization. The second experiment was conducted in a factorial design (2 x 5), composed by *Fusarium* spp. inoculation and by shading levels. The use of commercial bioprotectors containing antagonistic organisms to *Fusarium* spp. has given satisfactory results in some patossystems. Therefore, in the conduction of a third experiment, in a factorial design (4 x 4), *Fusarium* spp. inoculation and the efficiency of commercial products for biological control was tested. It was verified that the lime application, combined with large fertilizer doses, compromised the development of the “erva-mate” plants, besides turning them more susceptible to *Fusarium* spp. The availability of nutrients also influenced the fungic population of the soil. In the same way, plants submitted to cower shading levels or full sun had its development compromised and were more susceptible to the disease. The use of commercial bioprotectors was not efficient in the conditions of this experiment.

Key words: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, nutrients, luminosity, bioprotectors.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Gráficos das notas atribuídas aos sintomas de clorose de folhas (**A**), necrose de folhas (**B**), encarquilhamento de folhas (**C**), queda de folhas (**D**), necrose de raízes (**E**), soma total dos sintomas (**F**) e número de mudas com ausência de sintomas (**G**), que se manifestaram nas mudas de erva-mate inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum*, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK). (C0, C1 e C2) = níveis de calagem; (A0, A1, A2 e A3) = níveis de adubação 56
- FIGURA 2 – Gráficos das notas atribuídas aos sintomas clorose de folhas (**A**), necrose de folhas (**B**), encarquilhamento de folhas (**C**), queda de folhas (**D**), necrose de raízes (**E**), total dos sintomas (**F**) e número de mudas com ausência de sintomas (**G**) que se manifestaram nas mudas de erva-mate inoculadas ou não com *Fusarium solani*, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK). (C0, C1 e C2) = níveis de calagem; (A0, A1, A2 e A3) = níveis de adubação 58
- FIGURA 3 – Gráficos das notas atribuídas aos sintomas clorose de folhas (**A**), necrose de folhas (**B**), encarquilhamento de folhas (**C**), queda de folhas (**D**), necrose de raízes (**E**), total dos sintomas (**F**) e número de mudas com ausência de sintomas (**G**) que se manifestaram nas mudas de erva-mate inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK). (C0, C1 e C2) = níveis de calagem; (A0, A1, A2 e A3) = níveis de adubação 60
- FIGURA 4 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (**A**) número de folhas, (**B**) altura, (**C**) diâmetro do colo, (**D**) biomassa radicular (BMR), (**E**) aérea (BMA) e (**F**) total (BMT) e (**G**) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função da inoculação ou não de *Fusarium* spp. (Fator F). Colunas não seguidas de mesma letra diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro 65

FIGURA 5 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função dos níveis de calagem (Fator C)	66
FIGURA 6 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função dos níveis de adubação NPK (Fator A)	68
FIGURA 7 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), em função da combinação dos fatores F (inoculação ou não de <i>Fusarium</i> spp.) e C (níveis de calagem). Colunas não seguidas de mesma letra diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro	70
FIGURA 8 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK)	71
FIGURA 9 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A) , <i>Verticillium</i> (B) , outros fungos (C) , número de gêneros (D) e total (E) , presentes no solo, em função da inoculação ou não de <i>Fusarium</i> spp. (Fator F)	76
FIGURA 10 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A) , <i>Verticillium</i> (B) , outros fungos (C) , número de gêneros (D) e total (E) , presentes no solo, em função dos níveis de calagem (Fator C)	78
FIGURA 11 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A) , <i>Verticillium</i> (B) , outros fungos (C) , número de gêneros (D) e total (E) presentes no solo em função dos níveis de adubação NPK (Fator A)	80
FIGURA 12 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A) , <i>Verticillium</i> (B) , outros fungos (C) , número de gêneros (D) e total (E) , presentes no solo, em função da combinação dos fatores F (inoculação de <i>Fusarium</i> spp.) e C (níveis de calagem)	82

FIGURA 13 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A), <i>Verticillium</i> (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E), presentes no solo, em função da combinação dos fatores F (inoculação ou não de <i>Fusarium</i> spp.) e A (níveis de adubação NPK)	83
FIGURA 14 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A), <i>Verticillium</i> (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E), presentes no solo, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK)	84
FIGURA 15 – Gráficos dos sintomas: necrose de folhas (A), clorose (B), amarelecimento (C), queda de folhas (E), necrose de raízes (E) e total dos sintomas (F) nas mudas inoculadas ou não com <i>Fusarium</i> spp. nos diferentes níveis de sombreamento. As colunas achureadas referem-se aos dados obtidos com as mudas que morreram antes do término do experimento somadas às que estavam vivas. Os valores do eixo X referem-se aos níveis de sombreamento: 1 = pleno sol, 2 = 26%, 3 = 41%, 4 = 84%, 5 = 95% de sombreamento	89
FIGURA 16 – Gráficos das variáveis número de folhas (A), (BMA) biomassa seca aérea (B), altura (C), (BMR) biomassa seca radicular (D), diâmetro do colo (E), (BMT) biomassa seca total (F) e a relação BMA/BMR (G) das mudas inoculadas ou não com <i>Fusarium</i> spp. nos diferentes níveis de sombreamento (Fator B). Os valores do eixo X referem-se aos níveis de sombreamento: 1 = pleno sol, 2 = 26%, 3 = 41%, 4 = 84%, 5 = 95% de sombreamento	93
FIGURA 17 – Número de UFCs mg ⁻¹ de solo de <i>Fusarium</i> (A), <i>Verticillium</i> (B), outros fungos (C) e total (D) presentes no solo em função dos diferentes níveis de sombreamento (Fator B). Os valores do eixo X referem-se aos níveis de sombreamento: 1 = pleno sol, 2 = 26%, 3 = 41%, 4 = 84%, 5 = 95% de sombreamento	97

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Análise química do solo utilizado no experimento	39
TABELA 2 – Notas atribuídas aos graus de severidade de cada sintoma observado	40
TABELA 3 – Análise química do solo utilizado no experimento	43
TABELA 4 – Análise química do solo ao final do experimento em função da calagem (Fator C) e da adubação NPK (Fator A)	50
TABELA 5 – Níveis de significância na análise da variância para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os fatores F, C e A e interação entre estes	64
TABELA 6 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos nas variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função dos níveis de calagem (Fator C)	67
TABELA 7 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos nas variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função da adubação NPK (Fator A)	69
TABELA 8 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos nas variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK)	72
TABELA 9 – Níveis de significância para a população dos fungos <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> , outros fungos, número de gêneros e população total de gêneros presentes no solo em função dos fatores F, C e A e sua interação	75

TABELA 10 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão para os valores obtidos na contagem do número de UFCs mg^{-1} de solo de <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> , outros fungos, número de gêneros e população total, presentes no solo em função do fator C (níveis de calagem)	79
TABELA 11 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos para o número de UFCs mg^{-1} de solo de <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> , outros fungos, número de gêneros e população total, presentes no solo em função do fator A (níveis de adubação NPK)	81
TABELA 12 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos para o número de UFCs mg^{-1} de solo de <i>Verticillium</i> e população total, presentes no solo em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK)	85
TABELA 13 – Análise química do solo inicial e ao final do experimento	87
TABELA 14 – Níveis de significância na análise da variância para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os fatores F (inoculação ou não de <i>Fusarium</i> spp.) e B (níveis de sombreamento) e sua interação	90
TABELA 15 – Teste de Tukey na comparação de médias para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os níveis do fator F (inoculação ou não de <i>Fusarium</i> spp.)	91
TABELA 16 – Equações polinomiais testadas para os parâmetros de crescimento: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa seca aérea (BMA) biomassa seca radicular (BMR) biomassa seca total (BMT) e relação BMA/BMT e parâmetros de precisão, em função dos níveis de sombreamento (Fator B)	92
TABELA 17 – Níveis de significância para a população dos fungos <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> , outros fungos, número de gêneros e população total de gêneros presentes no solo em função dos fatores F (inoculação ou não de <i>Fusarium</i> spp.) e B (níveis de sombreamento) e interação entre ambos	96
TABELA 18 – Equações polinomiais testadas e parâmetro de precisão para as variáveis <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i> , outros e população total presente no solo em função dos níveis de sombreamento (Fator B)	97
TABELA 19 – Análise química do solo inicial e ao final do experimento	99

TABELA 20 – Níveis de significância na análise da variância para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e B (bioprotetores comerciais) e sua interação 100

TABELA 21 – Níveis de significância para a população dos fungos *Fusarium*, *Penicillium*, outros fungos, número de gêneros e população total de gêneros presentes no solo em função dos fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e B (bioprotetores comerciais) e sua interação 101

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Temperaturas máximas e mínimas (°C), observadas de 10 em 10 dias, durante o período de desenvolvimento do estudo. Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS	117
APÊNDICE 2 – Precipitação Pluviométrica (mm), Umidade Relativa Média (%) e Temperatura Média (°C), observadas de 10 em 10 dias, durante o período de desenvolvimento do estudo. Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS	118
APÊNDICE 3 – Temperatura (°C) e Umidade Relativa (%) nos horários 12, 18 e 24 horas, observadas de 10 em 10 dias, durante o período de desenvolvimento do estudo. Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS	119
APÊNDICE 4 – Experimento com níveis de sombreamento (Estudo 2). Plantas de erva-mate submetidas a 95% de sombreamento (sadias) (A) e a pleno sol apresentando clorose, necrose e queda de folhas (B); (C) disposição das plantas dentro das capelas, 1- não inoculadas e sadias, 2- inoculadas com <i>Fusarium</i> spp. e apresentando clorose; (D) aspecto geral do experimento	120
APÊNDICE 5 – Descrição dos produtos comerciais de biocontrole	121
APÊNDICE 6 – Exemplos dos sintomas observados nas plantas de erva-mate e notas atribuídas ao grau de severidade de cada um: (A) clorose (nota 4) e necrose (nota 1); (B) clorose (nota 2) seguida de necrose (nota 3); (C) clorose (nota 5), necrose (nota 2) e encarquilhamento (nota 5); (D) queda de folhas (nota 2), clorose (nota 4) e necrose (nota 3); (E) amarelecimento (nota 4); (F) estagnação do crescimento (nota 4) e amarelecimento (nota 4); (G, H e I) muda sadia, tratamento C0A1 (nota 0), (G) torrão de solo tomado pelas raízes, (H) raízes lavadas e sadias, (I) muda sadia; (J, K e L) detalhes do sistema radicular com necrose (nota 5)	122
APÊNDICE 7 – Desenvolvimento de <i>Fusarium</i> nas amostras da parte aérea (A) e raízes (aumento 4 x) (B)	123

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 Característica da espécie e cultivo	20
2.2 A podridão-de-raízes da erva-mate	21
2.3 O gênero <i>Fusarium</i> e a podridão-de-raízes	22
2.4 A relação entre nutrientes minerais e a resistência das plantas a doenças	23
2.4.1 O nitrogênio e as doenças de plantas	24
2.4.2 O fósforo e as doenças de plantas	27
2.4.3 O potássio e as doenças de plantas	28
2.4.4 O cálcio e as doenças de plantas	30
2.4.5 O magnésio e as doenças de plantas	32
2.5 O ambiente como precursor de suscetibilidade de plantas a doenças	33
2.6 Uso de antagonistas para controle biológico de doenças	34
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Localização e características gerais dos experimentos	37
3.2 Estudos realizados	37
3.2.1 Estudo 1 - Efeito da nutrição NPK e do pH do solo na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate	37
3.2.2 Estudo 2 - Efeito da intensidade de sombreamento na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate	42
3.2.3 Estudo 3 - Eficiência de produtos comerciais para controle biológico da podridão-de-raízes da erva-mate	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 Estudo 1 - Efeito do NPK e do pH do solo na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate	50

4.1.1 Efeito dos tratamentos na disponibilidade de nutrientes	50
4.1.2 Efeito dos tratamentos na incidência e severidade da doença	54
4.1.3 Efeito dos tratamentos nos parâmetros de crescimento das mudas	64
4.1.4 Efeito dos tratamentos na população fúngica do solo	74
4.2 Estudo 2 - Efeito da intensidade de sombreamento na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate	86
4.2.1 Propriedades químicas do solo	86
4.2.2 Efeito dos tratamentos na incidência e severidade da doença	87
4.2.3 Efeito dos tratamentos nos parâmetros de crescimento das mudas	90
4.2.4 Efeito dos tratamentos na população fúngica do solo	95
4.3 Estudo 3 - Uso de produtos comerciais para controle biológico da podridão-de-raízes da erva-mate	98
4.3.1 Propriedades químicas do solo	98
4.3.2 Efeito dos tratamentos na incidência e severidade da doença, nos parâmetros de crescimento e na população fúngica do solo	99
5 CONCLUSÕES	103
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

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 significativa 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.

Segundos dados do IBGE (2005), os estados da Região Sul do Brasil produziram juntos cerca de 421.363 toneladas de folhas provenientes de ervais cultivados. O Rio Grande do Sul produz a maior parte (52%), seguido pelo Paraná com 39% e Santa Catarina com 9%. A área plantada nesses três estados chega a 97.922 hectares. Outra forma de produção, a extrativista, contribui com 238.465 toneladas de erva-mate cancheada (industrializada) entre os três estados, sendo a maior parte produzida pelo PR (59%), seguido por SC com 26% e RS com 16%. Porém, com o crescente aumento de área plantada e produção, estima-se que os dados atuais sejam superiores aos de 2005.

O crescente aumento da área plantada, especialmente na última década, desencadeou uma série de problemas fitossanitários por causa da concentração de alimento (hospedeiro) a pragas e doenças, não-somente em ervais, mas também em viveiros. Além desses, existem problemas relacionados ao manejo e cultivo dos ervais, práticas inadequadas, como adubação nas quantidades e épocas desfavoráveis e plantio de mudas com baixa qualidade e em áreas inadequadas.

Um dos maiores problemas fitossanitários da erva-mate, nos últimos anos, é a podridão-de-raízes. Essa doença foi constatada por Grigoletti Jr. & Auer (2001) no estado do Paraná e é causada por *Fusarium* sp. No Rio Grande do Sul, essa doença foi constatada em ervais, no ano de 2004, por Poletto et al. (2006a), atingindo quatro municípios na região do Vale do Taquari, Anta Gorda, Ilópolis, Putinga e Arvorezinha, sendo causada por várias espécies do gênero *Fusarium* como, *F. oxysporum* Schlecht., *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. decemcellulare* Brick, *F. tabacinum* (Beyma) W. Gams e *F. tricinctum* (Corda) Sacc., além de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp. Porém, sintomas dessa doença têm sido observados por produtores, nessa região, desde o ano de 1996. A doença causa necrose do sistema radicular e, conseqüentemente, redução no desenvolvimento e na produção, podendo, nos casos mais

graves, causar a morte da planta. Nos ervais atacados as perdas na produtividade podem chegar a 30%.

Poletto et al. (2006b), realizando um levantamento nas propriedades com ervais doentes na região do Vale do Taquari, observaram que se diferenciam quanto ao método de cultivo, manejo, tipo de solo e idade. O estudo mostrou que 84% dos produtores fazem adubação química e calagem do solo, porém, 71% desses não fazem análise química do solo e nem seguem recomendações técnicas. Outra característica marcante, observada no estudo, refere-se ao tipo de sombreamento, existindo ervais cultivados a pleno sol, consorciados ou não com culturas agrícolas, e os sombreados, consorciados com culturas florestais nativas ou exóticas. A doença ataca desde ervais novos, recém implantados, até mais velhos, com mais de cinquenta anos. Algumas dessas características podem interferir na ocorrência e na severidade de doenças como a podridão-de-raízes.

A falta de critérios técnicos na aplicação de adubos minerais pode causar distúrbios no crescimento das plantas, baixa produção e/ou torná-las suscetíveis a doenças. Por outro lado, a redução do inóculo e da taxa de progresso de doenças pode ser alcançada pela disponibilização de nutrientes ou pelo seu fornecimento adequado, ou ainda, por práticas culturais que melhorem a absorção ou a interação com o ambiente (POZZA & POZZA, 2003). Segundo Zambolim et al. (2001), a integração do efeito de um nutriente específico com resistência genética, práticas culturais e controle químico pode reduzir a intensidade de doenças.

A erva-mate é uma espécie que cresce naturalmente em solos ácidos, com altos teores de alumínio e baixa disponibilidade de nutrientes (PANDOLFO, 2003). Porém, seu cultivo consorciado com culturas agrícolas anuais, que possuem exigências nutricionais diferentes, faz com que a maioria dos produtores realize práticas de adubação e calagem visando a adequar a disponibilidade de nutrientes às exigências da cultura agrícola. Esse hábito, no entanto, poderá inferir mudanças fisiológicas e bioquímicas na erva-mate e no comportamento da população fúngica do solo.

As práticas culturais também podem influenciar na sobrevivência de patógenos no solo e essas, juntamente com fatores climáticos, edáficos e de cobertura vegetal, são determinantes na distribuição e ocorrência de *Fusarium* spp. Além disso, nos mais variados patossistemas, as populações de microrganismos apresentam comportamento dinâmico, e a regulação dessas populações depende das interações entre indivíduos e destes com o ambiente (SAREMI et al., 1999). Modificações no ambiente do erval são alcançadas mediante a adoção ou mudança de algumas práticas culturais como: aumento da cobertura vegetal do solo,

consórcio com outras espécies florestais e alteração na quantidade de matéria orgânica do solo.

O controle de patógenos de solo, como *Fusarium* spp., causadores de murchas-vasculares e podridão-de-raízes é muito difícil, pois se desenvolvem no solo e penetram no hospedeiro via sistema radicular. Além disso, são capazes de sobreviver no solo por longos períodos, o que dificulta sua erradicação (BEDENDO, 1995). Fungicidas químicos não possuem um efeito eficaz e nem desejado pelos agricultores. Em consequência das inúmeras reações químicas que os produtos têm com o solo, não são eficazes e contaminam o meio ambiente e a própria erva-mate, que é consumida “*in natura*”.

Métodos de controle biológico e manejo adequado das culturas podem ser ferramentas de muita valia na mão dos produtores. O uso de antagonistas biológicos como o *Trichoderma* spp., tem dado bons resultados no controle de patógenos de solo, especialmente *Fusarium* spp., causador da murcha-vascular em crisântemo (MENEZES, 2003; MENEZES, 2007), em tomateiro e pepineiro (ETHUR, 2006) e em algodoeiro (HOWELL et al., 1997).

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo geral de buscar opções de manejo e controle da podridão-de-raízes de erva-mate causada por *Fusarium* e tem como objetivos específicos: avaliar o efeito de diferentes doses de nitrogênio, potássio e fósforo e do pH do solo sobre a incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate; avaliar a incidência e a severidade da podridão-de-raízes em mudas de erva-mate submetidas a diferentes intensidades de sombreamento e avaliar a eficiência de bioprotetores comerciais à base de agentes antagonistas no controle biológico de *Fusarium* spp. causadores de podridão-de-raízes de erva-mate.

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 km² 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 km², representando cerca de 5% do território nacional e 3% da América do Sul (ROTTA & 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 & 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 Jr. 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 & 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 da erva-mate é uma doença causada por algumas espécies de fungos do gênero *Fusarium*, além de *Pythium* sp. e *Rhizoctonia* sp., atacando desde mudas no viveiro até plantas adultas no campo. No viveiro, a doença se manifesta como necrose nas raízes, nas pontas ou em manchas, evoluindo, na maioria das vezes, para necrose total. Na parte aérea, é possível observar manchas cloróticas seguidas de necrose, geralmente nas pontas das folhas mais velhas, amarelecimento e queda excessiva de folhas, ou murcha seguida de morte (GRIGOLETTI Jr. & AUER, 2001; POLETTTO et al., 2005a). As espécies do gênero *Fusarium* identificadas, envolvidas na podridão-de-raízes em viveiro são *F. oxysporum* e *F. solani*, além de outras espécies que ainda não foi comprovada sua patogenicidade como, *F. avenaceum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides* *F. merismoides* (POLETTTO et al., 2005a) e *F. verticillioides* (POLETTTO et al., 2006c).

No campo, na maioria das vezes, os sintomas se apresentam em reboleiras de tamanho variável, localizadas no meio do erval. Em alguns casos, erveiras mortas ou com sintomas aparecem espalhadas por todo erval. As árvores apresentam sintomas de amarelecimento ascendente das folhas, estagnação do crescimento e queda excessiva das folhas mais velhas, morte parcial (de alguns galhos da planta) e, em casos mais avançados da doença, morte total da planta. As raízes superficiais e profundas apodrecem, começando com manchas escuras na superfície. Em casos mais avançados da doença, é possível observar estruturas constituídas de micélio e conídios do patógeno (POLETTTO et al., 2006a).

2.3 O gênero *Fusarium* e a podridão-de-raízes

O gênero *Fusarium* é um dos mais importantes na Fitopatologia mundial, tendo, nos últimos anos, adquirido também importância em consequência da produção de micotoxinas responsáveis por doenças em pessoas e animais (VENTURA, 2000). A forma do gênero *Fusarium* exibe um grau notável de biodiversidade em relação à atributos morfológicos, fisiológicos e ecológicos. Assim, não é surpreendente que os representantes do gênero existam em uma gama extensiva de nichos ecológicos e na maioria das regiões geográficas do mundo (BURGESS et al., 1997). A enorme quantidade de espécies de um mesmo gênero dá a dimensão de diferentes habitats em que pode sobreviver. Dentro de cada espécie de *Fusarium*, pode haver ainda uma subdivisão em *formae speciales* patogênicas ou não-patogênicas, ambas abrigadas em solos naturais ou cultivados, onde podem permanecer por longo tempo sob a forma saprofítica, sobrevivendo no material orgânico do solo (EDEL et al., 1997).

Entre as doenças mais comuns causadas por *Fusarium*, destacam-se as podridões de raízes, caules e frutos, além das murchas vasculares (NELSON et al., 1983). Algumas espécies são particularmente comuns no solo, onde podem persistir sob a forma de clamidósporos ou como hifas, enquanto que outras espécies produzem conídios disseminados pelo ar, colonizando normalmente ramos, folhas, inflorescências e frutos (VENTURA, 1999).

No Brasil, *Fusarium* spp. são patógenos de inúmeras espécies vegetais. Em plantas de café, causa mortalidade de mudas em viveiro em todas as regiões do país. Em plantas adultas, *Fusarium oxysporum* f. sp. *coffea* provoca a murcha-vascular, que se manifesta na forma de amarelecimento de folhas, murcha, estagnação do crescimento, seca de ramos e frutos, desfolha, até morte súbita (ZAMBOLIM et al., 2005). Na bananeira, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* é causador do mal-do-panamá. A doença causa grandes prejuízos em todo o mundo e os sintomas se manifestam na forma de amarelecimento de folhas, murcha e necrose. Internamente ao pseudocaule e nos rizomas observam-se pontuações pardo-avermelhadas e destruição dos tecidos (CORDEIRO et al., 2005). Em plantações de algodão, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* causa murcha-vascular, sendo considerada a principal doença da cultura. A doença é caracterizada sobretudo pela obstrução dos vasos condutores de seiva afetando, conseqüentemente, a parte aérea da planta (CIA & SALGADO, 2005).

Segundo Krugner & Auer (2005), podridões-radiculares e “damping off” causadas por *Fusarium* spp. são observados também em espécies de *Pinus* spp. e *Eucalyptus* spp. cultivadas no Brasil. Além de *Fusarium* spp., *Cylindrocladium* spp., *Phytophthora* spp.,

Pythium spp. e *Rhizoctonia solani* também podem causar a doença, que ataca mudas no viveiro causando sua morte por destruição total do sistema radicular ou por estrangulamento no colo da muda.

Fusarium também é patógeno de sementes de erva-mate. Poletto et al. (2005b), analisando amostras de sementes dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, que estavam em processo de estratificação, encontraram *Fusarium merismoides* e *Cylindrocladium* sp. envolvidos no apodrecimento de sementes.

2.4 Relação entre nutrientes minerais e a resistência das plantas a doenças

Os efeitos dos nutrientes minerais no crescimento e produção são usualmente estudados em termos das 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 na sua composição química. Os nutrientes minerais podem também aumentar ou diminuir a resistência das plantas aos patógenos (COLHOUM, 1973 *apud* ZAMBOLIM & VENTURA, 1993). A resistência pode ser aumentada por modificações na anatomia (células da epiderme mais grossas, lignificadas 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, biossíntese de suberina e 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, 1990).

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.

2.4.1 O nitrogênio e as doenças de plantas

O nitrogênio é o elemento mineral mais abundante nas plantas, é essencial para a produção de aminoácidos e ácidos nucléicos (BLOOM, 2004) e também, segundo Huber & Thompson (2007), proteínas, enzimas, hormônios, fitoalexinas e fenóis. Promove o crescimento vigoroso, retarda a maturação e afeta o tamanho da célula e a densidade da parede celular (HUBER & THOMPSON, 2007). Em níveis altos, resulta na produção de tecidos jovens suculentos, podendo também, prolongar o estágio vegetativo e/ou retardar a maturidade da planta. Esses efeitos criam condições favoráveis ao ataque de patógenos. Inversamente, a planta cultivada em condições de deficiência de nitrogênio, pode tornar-se debilitada, crescer lentamente e se tornar susceptível 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 & THOMPSON, 2007).

O nitrogênio (N) pode ser absorvido pelas plantas na forma reduzida ou oxidada. Muitas plantas podem utilizar várias formas de N orgânico, outras, porém, são muito

adaptadas a uma ou outra forma. As diferentes formas do elemento absorvido pela planta são metabolizadas de diferentes maneiras, podendo provocar um profundo efeito na doença, direta ou indiretamente, modificar as características de crescimento da planta, metabólitos intermediários, exsudatos de raízes e, com isso, induzir um controle biológico de doenças (HUBER & WATSON, 1974 *apud* HUBER & THOMPSON, 2007).

A forma de nitrogênio (amônio ou nitrato) disponível para o hospedeiro ou patógeno afeta a severidade ou resistência mais que a quantidade do elemento. A redução de doenças pelo nitrogênio resulta, geralmente, da influência de formas específicas desse nutriente, em rotas metabólicas diferentes, alterando o crescimento de constituintes da planta ou exsudatos. As formas de nitrogênio também apresentam efeitos diretos sobre a germinação, sobrevivência, reprodução, crescimento e virulência do patógeno. O efeito de cada forma de nitrogênio sobre as doenças está associado ao pH. O aumento na severidade das doenças, na presença de amônio, é geralmente em razão do pH ácido, enquanto que o aumento em consequência do nitrato é geralmente associado a condições de pH neutro a alcalino. De uma maneira geral, doenças causadas por patógenos dos gêneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* e *Aphanomyces* podem ser reduzidas por nitrato e aumentadas por amônio, enquanto que doenças causadas por *Gaeumannomyces*, *Diplodia*, *Pythium* e *Streptomyces* respondem de maneira inversa (ZAMBOLIM et al., 2001).

Huber & Thompson (2007), citando outros autores¹, exemplificam alguns casos em que a forma e o teor de nitrogênio interferem na doença. A severidade da podridão-radicular da ervilha, por exemplo, causada por *Fusarium* spp., aumenta com o fornecimento de N na forma de amônia (NH₄) e diminui na forma de nitrato (NO₃). A podridão-radicular do amendoim, causada por *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp. ou *Fusarium* spp. aumenta com o aumento do nutriente e o mesmo fato acontece com *Pythium* sp. em gerânio e *Phytophthora parasitica*, em tomateiro. A infecção de sementes da maioria dos cereais, causada por *Fusarium* spp., é aumentada em função da adição de N. A podridão-radicular do aspargo, causada por *Fusarium oxysporum* e *F. moniliforme* é aumentada com o fornecimento de NH₄ e diminuída na forma de NO₃.

Zambolin et al. (2001) observaram que, em doenças vasculares e no tombamento de plântulas, o fornecimento de nitrogênio, na forma de nitrato, reduz a severidade da maioria dessas doenças como, por exemplo, *Fusarium* sp. em feijoeiro, trigo, algodão e tomateiro, *Phytophthora* sp. em citros, *Armillaria* sp. em pinus, *Rhizoctonia* sp. em batata, beterraba,

¹ Sagar & Sugha (1998), Csinos & Gaines (1986), Gladstone & Moorman (1989), Workneh et al. (1993), Martin et al. (1991) e Elmer (1989).

feijoeiro e trigo, enquanto que a forma amoniacal, na maioria dos casos, aumenta a severidade dessas doenças.

Pozza et al. (2001) avaliaram os efeitos da nutrição nitrogenada e potássica sobre a incidência e a severidade de *Cercospora coffeicola* em plantas jovens de cafeeiros. Os autores concluíram que, com o aumento das doses de N, diminuiu a incidência e a severidade da doença, já o aumento da dosagem de K teve efeito contrário. Pozza et al. (2007) também concluíram que a utilização de um substrato bem equilibrado nutricionalmente, reduziu a incidência e severidade da doença em mudas de café.

Cornélio et al. (2007) observaram que, quanto maior a dose de N na forma amoniacal aplicada em plantas de arroz, maior foi a incidência de brusone (*Pyricularia grisea*) nas sementes, concluindo que doses altas de N nos campos de produção de sementes, favorecem a ocorrência do fungo nas mesmas, aumentando os riscos de perda. Para Camargo & Sá (2004), o aumento da infecção por fungos em cereais pode ocorrer devido ao aparecimento de falhas na camada protetora externa, com elevado teor de sílica, provocadas pelo crescimento acelerado do tecido vegetal.

O nitrogênio está envolvido em muitos processos fisiológicos das plantas, no crescimento e na resistência a doenças. Desse modo, muitos constituintes das plantas, que são afetados pelo nutriente, são correlacionados com a resistência ou à suscetibilidade a doenças. O N é o mineral que mais causa mudanças no conteúdo de celulose nas plantas e conseqüentemente afeta o mecanismo de resistência da parede celular. A severidade do ataque de patógenos de solo, que causam doenças radiculares em mudas, pode ser reduzida aumentando a vigorosidade das mesmas através da adição de nitrogênio, pelo escape do período de maior ataque do patógeno ou produzindo raízes adicionais para compensar as atacadas (HUBER, 1980 *apud* HUBER & THOMPSON, 2007).

Segundo Marschner (1995), existem diferenças na incidência e severidade de doenças causadas por parasitas obrigatórios ou facultativos em função do fornecimento de nitrogênio. A infecção por parasitas obrigatórios é aumentada com maiores quantidades do nutriente, o contrário é observado em infecções de parasitas facultativos, como é o caso de *Fusarium* spp. e *Alternaria* spp. Por exemplo, a suscetibilidade do trigo à ferrugem (*Puccinia graminis*) é aumentada com o fornecimento de N e plantas deficientes desse nutriente tornam-se resistentes. O número de pústulas por cm² de folha aumenta de cerca de 70, em plantas deficitárias, para cerca de 200 em plantas com excesso desse nutriente.

2.4.2 O fósforo e as doenças de plantas

O fósforo (como fosfato, PO_4^{3-}) é um componente integral de compostos importantes das células vegetais, incluindo fosfato-açúcares, intermediários da respiração e fotossíntese, bem como os fosfolipídios que compõem as membranas vegetais. É também componente de nucleotídeos utilizados no metabolismo energético das plantas (ATP) e no DNA e RNA (MARSCHNER, 1995; BLOOM, 2004). O papel central do fósforo (P) nas plantas é o de transferência de energia e metabolismo de proteínas. Em cereais, o P é responsável pelo incremento do número de ápices e, conseqüentemente, o número de panículas e rendimento de grãos. Em legumes, a aplicação de P aumenta o número de vagens, peso e rendimento de grãos (PRABHU et al., 2007a).

Resultados de vários experimentos a campo e em casa de vegetação sugerem que altas concentrações de fósforo podem reduzir ou aumentar o desenvolvimento de doenças. 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. Quando aplicado no solo, 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 causando mudanças nos mecanismos de defesa das plantas (PRABHU et al., 2007a).

De modo geral, o fósforo tem sido importante no decréscimo do ataque dos fungos em diferentes espécies de plantas. A combinação com o potássio em doses crescentes, também tem sido importante na redução do ataque de cercosporiose de cafeeiro. Entretanto, o aumento do nível de P, em certos casos, pode aumentar a severidade de ataque da doença, como ocorre com a ferrugem-da-cana (ZAMBOLIM & VENTURA, 1993).

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 do 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).

2.4.3 O potássio e as doenças de plantas

O potássio presente nas plantas (como o cátion K^+) desempenha um importante papel na regulação do potencial osmótico das células vegetais e também ativa muitas enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (BLOOM, 2004). Para Prabhu et al. (2007b), o K é importante para muitos processos vitais da planta, como regulador de várias rotas metabólicas e proporciona maior ganho econômico e produção das culturas. Aumenta o crescimento de raízes e promove a captação de água e nutrientes, sendo constituinte e regulador de mais de sessenta diferentes enzimas envolvidas no crescimento da planta. Reduz a respiração para prevenir gastos de energia, ajuda na fotossíntese, auxilia na translocação de açúcares e amido, produz grãos ricos em amido, aumenta o conteúdo de proteínas, mantém o turgor da célula e reduz a perda de água. O auxílio no retardo de doenças de algumas culturas está associado, sobretudo, com a formação dos precursores da clorofila e na prevenção da degradação desta.

Segundo Meurer & Inda Jr. (2004), o potássio tem alta mobilidade na planta, tanto entre células, como entre tecidos e também entre diferentes partes da planta, via xilema e floema. É comum o K ser redistribuído de folhas velhas para folhas novas. É o cátion mais abundante no citoplasma, também ocorrendo em alta concentração no cloroplasto. Ainda segundo os mesmos autores, as plantas deficientes em potássio mostram menor resistência à seca, apresentam maior suscetibilidade ao congelamento e ao ataque de fungos e, freqüentemente, é observado um desenvolvimento anormal dos tecidos e organelas das células.

O potássio, de um modo geral, reduz a susceptibilidade das plantas tanto a parasitas obrigatórios quanto a facultativos. Uma norma geral é que a susceptibilidade diminui (ou a

resistência aumenta) em resposta ao potássio, da mesma forma pela qual o crescimento da planta responde ao aumento do suprimento desse nutriente (ZAMBOLIM et al., 2001). De forma geral, o fornecimento equilibrado de potássio à planta, diminui a incidência de doenças em razão do aumento da resistência à penetração e desenvolvimento de alguns patógenos. Além de aumentar a espessura da parede celular, proporciona maior rigidez dos tecidos, regulação funcional dos estômatos e promove a rápida recuperação dos tecidos que sofreram injúria (HUBER & ARNY, 1985 *apud* BASSETO et al., 2007).

A doença da podridão-do-caule em arroz (*Fusarium* sp.) foi controlada, simplesmente, com a aplicação de fertilizantes potássicos. Entretanto, na maioria dos casos, o efeito do nutriente está restrito na faixa de deficiência do elemento, isto é, plantas deficientes em K são mais suscetíveis do que plantas com níveis suficientes (HUBER & ARNY, 1985).

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*. A elevada susceptibilidade de plantas deficientes em potássio a certas doenças está relacionada com as funções metabólicas desse elemento. Em plantas deficientes, a síntese de compostos de elevado peso molecular (proteínas, amido e celulose) é diminuída, enquanto compostos orgânicos de baixo peso molecular, acumulam-se. Em plantas deficientes em K, um aumento no fornecimento desse elemento, conduz a um aumento no crescimento e diminui o conteúdo de compostos orgânicos de baixo peso molecular, até o ponto em que o crescimento da planta é máximo (ZAMBOLIM et al., 2001).

Prabhu et al. (2007b), citando outros autores², exemplificam a influência do potássio na severidade de algumas doenças. A murcha-de-fusarium na bananeira, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, a podridão-radicar do abacaxi, causada por *Phytophthora cinnamomi*, a ferrugem em cereais, causada por *Puccinia* spp., o “damping off” em beterraba, causado por *Pythium ultimum*, são alguns exemplos de doenças que diminuem com o aumento da disponibilidade de K. Entretanto, algumas outras doenças são mais severas com o aumento do nutriente, como é o caso da podridão-radicar em coníferas, causada por *Armillaria mellea* e *Phytophthora* spp., a podridão-radicar do feijoeiro, causada pela *Rhizoctonia solani*, do trigo, causada por *Fusarium* spp. e da soja, causada por *Phytophthora megasperma*.

² Rishbeth (1959), Last (1956), Hassebrauk (1930), Yale & Vaughn (1962), Shilds & Hobbs (1979), Halsall & Forrester (1977), Bateman (1965), Fehrmann & Duben (1980) e Pacumbaba et al. (1997).

Garcia Júnior et al. (2003) estudando o efeito da nutrição com potássio e calcário na incidência e severidade de cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berkeley & Cooke) em cafeeiro, observaram que o fornecimento de K em doses insuficientes ou acima do exigido pela planta, favoreceu a incidência e a severidade da doença, sendo a menor severidade encontrada na dose de 4 mmol L⁻¹ de substrato. Aumentando a dose de 2 mmol L⁻¹ para 8 mmol L⁻¹ de Ca, diminuiu substancialmente (78%) a incidência e severidade da doença.

2.4.4 O cálcio e as doenças de plantas

O cálcio é um cátion alcalino divalente. É o quinto elemento mais abundante na superfície terrestre com uma concentração média de 3,6% (RAHMAN & PUNJA, 2007). Os íons cálcio (Ca²⁺) são utilizados pelas plantas na síntese de novas paredes celulares e também no fuso mitótico durante a divisão celular. Ele é requerido para o funcionamento das membranas vegetais e foi-lhe atribuído o papel de mensageiro secundário em várias respostas da planta, tanto a sinais ambientais quanto hormonais (SANDERS et al., 1999 *apud* BLOOM, 2004).

O conteúdo de cálcio nos tecidos das plantas afeta a incidência de doenças parasíticas de duas formas: na primeira, quando os níveis de cálcio são baixos, o fluxo de compostos de baixo peso molecular (açúcares) do citoplasma para o apoplasto é aumentado; na segunda, poligalacturonatos de cálcio são requeridos na lamela média, para que haja estabilidade na parede celular. Muitos fungos e bactérias fitopatogênicas alcançam o tecido da planta pela produção de enzimas pectolíticas extracelulares, como a galacturonase, que dissolvem a lamela média. A atividade dessa enzima é drasticamente inibida pela presença de cálcio (MARSCHNER, 1995).

Vários fungos invadem preferencialmente o xilema e dissolvem a parede celular dos vasos, causando obstrução destes e induzindo os sintomas de murcha (ex. *Fusarium*). Em alguns casos, o efeito da aplicação de calcário no solo se faz sentir sobre fitopatógenos pela modificação do pH da solução do solo. Alterações no pH podem influenciar os patógenos direta ou indiretamente. Indiretamente, atuam modificando a população dos microrganismos antagonistas, reduzindo-os ou aumentando-os (JONES et al., 1990 *apud* ZAMBOLIM & VENTURA, 1993).

Estudos de vários patossistemas provaram haver fortes evidências de que o Ca^{2+} também pode ter um papel fundamental na transdução durante respostas de defesa da planta. Gelli et al. (1997) *apud* Rahman & Punja (2007), observaram que a resposta de defesa de células de tomateiro contra o fungo *Cladosporium fulvum* ocorre pela ativação de elicitores fúngicos a receptores na membrana plasmática do hospedeiro, seguida por uma série de reações bioquímicas, causando um aumento passageiro do nível de Ca^{2+} citosólico por um canal específico na membrana do protoplasma (RAHMAN & PUNJA, 2007).

A aplicação de calcário no solo pode reduzir o ataque de *Colletotrichum truncatum*, agente causal da antracnose da soja e a população de *Sclerotium rolfii* no solo. Por outro lado, a redução do pH do solo reduz o ataque da murcha de *Verticillium* em várias culturas, de *Phymatotrichum omnivorum* em algodoeiro e de *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* em trigo (ZAMBOLIM & VENTURA, 1993).

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 Ca^{2+} está envolvido na resistência do tomateiro aos fungos *Erwinia* spp., *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* spp. e *Sclerotium rolfii* e da mamona aos fungos *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 & VENTURA, 1993).

Rahman & Punja (2007), citando outros autores³, exemplificam várias doenças reduzidas pela aplicação de cálcio como: a podridão-radicular das culturas de abacate, causada por *Phytophthora cinnamomi*, dos citrus, causada por *P. nicotianae* e do pepineiro, causada por *Pythium splendens*; a podridão-de-alternaria (*Alternaria* spp.) e a podridão-de-botrytis (*Botrytis cinerea*) em maçã; o mofo-cinzento da berinjela, da pimenta e do pepineiro, causado por *B. cinerea*.

³ Messenger et al. (2000a), Campanella et al. (2002), Kao & Ko (1986), Biggs et al. (1993) e Chardonnet et al. (2000), Elad et al. (1993).

2.4.5 O magnésio e as doenças de plantas

Em células vegetais, os íons magnésio (Mg^{2+}) têm um papel específico na ativação de enzimas envolvidas na respiração, fotossíntese e síntese de DNA e RNA. O Mg^{2+} é componente da lamela média e também faz parte da estrutura da molécula de clorofila. Está também associado com a velocidade de crescimento das plantas, a mitose, os níveis de proteínas, o metabolismo de carboidratos e a fosforilação oxidativa em células fisiologicamente jovens. As funções bioquímicas e fisiológicas do Mg^{2+} incluem reações de transferência de energia envolvendo grupos fosfato-reativos e agindo como co-fator para muitas enzimas. Também desempenha um papel na síntese de açúcares, óleos e gorduras (BLOOM, 2004; JONES & HUBER, 2007). Diferente do cálcio, o magnésio é translocado de partes “maduras” da planta, para aquelas em crescimento ativo (ZAMBOLIM & VENTURA, 1993).

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

Jones & Huber (2007), citando outros autores⁴, exemplificam alguns patossistemas nos quais o 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 a podridão-radicular em algodoeiro, causada por *Phymatotrichum omnivorum*, são exemplos de doenças que aumentam com o suprimento do nutriente. Por outro lado, a podridão-radicular do feijoeiro e da soja, causada por *Rhizoctonia solani*; a murcha-de-fusarium do cravo (*Fusarium oxysporum*) e do algodoeiro (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* e *Verticillium albo-atrum*) são reduzidas com o aumento de Mg^{2+} .

⁴ Halleck & Garren (1968), Csinos & Bell (1989), Bell (1989), Jones et al. (1989), Beteman (1965), Castano & Kernkamp (1956), Lyakh (1986), National Research Council (1968) e Batson (1971).

2.5 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 onde 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 & MIZUBUTI, 2005).

Segundo Bressan (2004), em condições naturais ou agricultáveis, as plantas são frequentemente 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 outros como o conteúdo de água no solo pode levar dias ou até semanas e, ainda, fatores como as deficiências minerais do solo necessitam de maior tempo para se manifestar.

A adaptação e a aclimação 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 variadas é importante durante o estresse à alta temperatura, assim como é 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, que dependem da atividade de 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 na forma de alterações no sabor e na cor da folha, diminuição da área foliar e, em períodos de menor precipitação, observa-se estagnação do crescimento e 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, 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, a 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 frequentemente correlacionada com a epidemiologia da doença, seguida pela umidade e luz (AGRIOS, 2004 *apud* ANDRADE et al, 2007), além da nutrição e do pH do solo (AGRIOS, 2005).

2.6 Uso de antagonistas para controle biológico de doenças

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, doença é mais do que uma íntima interação do patógeno com o hospedeiro influenciada pelo ambiente. Doença, assim, é o resultado de uma interação entre hospedeiro, patógeno e diversos não-patógenos que também habitam o sítio de infecção e que apresentam potencial para limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro (COOK, 1985 *apud* BETTIOL & 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 & 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 foi isolado, se estabelecer e parasitar 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) (MELO, 1998).

O controle biológico, diferente 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 elas, 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 Jr. et al, 2000).

Trichoderma spp. é um deuteromiceto, subclasse Hifomicetes, ordem Moniliales, família Moniliaceae. Produz abundantes 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. Elas 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 e competição (MARTINS-CORDER & MELO, 1998; MELO, 1998). 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, celulasas, β -1,3-D-glucanases, β -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 β -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 com 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 murcha-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* 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).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e características gerais dos experimentos

Os ensaios experimentais foram realizados na área do Viveiro Florestal pertencente ao Departamento de Ciências Florestais (DCF) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), localizada nas coordenadas 29°42' de latitude sul e 53°42' de longitude oeste e com altitude de 95 m. Os dados climáticos, referentes ao período de realização dos experimentos, foram obtidos na Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria e encontram-se nos Apêndices 1, 2 e 3.

3.2 Estudos realizados

3.2.1 Estudo 1 – Efeito da nutrição NPK e do pH do solo na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate

O experimento foi instalado na casa de vegetação pertencente ao Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria, em condições de ambiente não-controlado.

Delineamento experimental:

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 3 x 4 (Fator F: inoculação de *Fusarium* spp.; Fator C: calagem do solo; Fator A: doses de nitrogênio (N) fósforo (P) e potássio (K)), totalizando 48 tratamentos, com cinco repetições de uma muda cada.

Os níveis dos fatores foram assim compostos:

Fator F:

FO: inoculação de *Fusarium oxysporum*.

FS: inoculação de *Fusarium solani*.

FOS: inoculação de *F. oxysporum* e *F. solani* juntos.

SF: sem inoculação.

Fator C:

C0: solo sem calagem.

C1: solo com adição de 8,79 g de calcário kg⁻¹ de solo.

C2: solo com adição de 13,18 g de calcário kg⁻¹ de solo.

Fator A:

A0: solo sem aplicação de NPK.

A1: aplicação de 45,7, 10,0 e 57,0 mg kg⁻¹ de solo, de N, P e K, respectivamente.

A2: aplicação de 91,4, 20,0 e 114,0 mg kg⁻¹ de solo, de N, P e K, respectivamente.

A3: aplicação de 137,1, 30,0 e 171,0 mg kg⁻¹ de solo, de N, P e K, respectivamente.

Material utilizado:

As espécies *Fusarium oxysporum* (isolado 12.4a) e *F. solani* (isolado 4.4) utilizados neste estudo pertencem ao Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária/CCR/UFSM. Estes isolados foram escolhidos pela sua patogenicidade e por estarem presentes em todos os ervais estudados por Poletto et al. (2006a).

O solo utilizado no experimento foi coletado em um horizonte A (10-20 cm) classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (STRECK, 2002), peneirado (malha 0,5 cm) e seco à sombra. Depois de homogeneizado, foi coletada uma amostra e esta analisada quimicamente no Laboratório Central de Análises de Solo da UFSM. De posse dos resultados (Tabela 1), foram calculadas as quantidades de N, P, K e calcário a serem aplicadas no solo de cada tratamento.

Para a calagem, foi utilizado calcário dolomítico com PRNT (Poder Real de Neutralização Total) de 75,1% de acordo com informe da embalagem. A calagem do nível 2 (Fator C) foi realizada segundo a recomendação da Comissão de Química e Fertilidade do Solo (2004) para a espécie, suficiente para elevar o pH para 5,5. A calagem do nível 3 foi suficiente para elevar o pH para 6,0.

A adubação realizada no nível 3 (Fator A) foi segundo a recomendação da Comissão de Química e Fertilidade do Solo (2004) para a espécie. A adubação realizada no nível 2 foi

50% a menos da recomendação e a do nível 4 foi 50% a mais. As fontes dos nutrientes N, P e K utilizadas foram NH_4NO_2 , P_2O_5 e KCl (PA), N, P e K, respectivamente.

Tabela 1 – Análise química do solo utilizado no experimento.

MO	Argila	pH	Índice	P*	K*	Ca	Mg	Al	CTC _{pH7,0}	V	m
g dm^{-3}	H_2O	SMP	mg dm^{-3}	$\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$					%		
19	300	4,8	5	6	36	0,9	0,4	6,3	15,1	9	82

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

Instalação do experimento:

Para acondicionar o solo, foram utilizados vasos de polietileno preto, vedados para evitar perda de nutrientes e, em cada vaso, foram adicionados 2 kg de solo seco. No momento do enchimento dos vasos, o calcário (em pó), o fósforo e o potássio (diluídos em água) foram incorporados ao solo nos respectivos tratamentos. O nitrogênio foi adicionado diluído em água duas semanas após a repicagem das mudas. Para determinar a quantidade de água a ser repostada em cada vaso, foi determinada a capacidade de campo do solo segundo o método descrito pela Embrapa (1997). A reposição foi feita com água de poço artesiano, manualmente em cada vaso. Para evitar possíveis influências do meio, os vasos foram alternados a cada vinte dias e pesados para calibração da umidade.

Em setembro de 2006, as mudas de erva-mate, doadas por um viveiro particular do município de Anta Gorda – RS, foram repicadas para os vasos, todas com o mesmo tamanho (quatro folhas e 5 cm de altura, partindo do colo).

Produção do inóculo:

Os isolados de *Fusarium oxysporum* ou *F. solani* utilizados neste estudo são oriundos de plantas de erva-mate doentes e, identificados em estudos anteriores por Poletto et al., (2006a), conservados, por dois anos, em frascos com sementes de sorgo e solo esterilizados, em temperatura ambiente. Porções destas sementes foram retiradas dos frascos e transferidas para placas de Petri contendo batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidas por 10 dias a 24°C com fotoperíodo de 12 h por 20 dias. Porções das colônias crescidas nas placas foram transferidas para erlenmeyers contendo 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 h por 20 dias. Após esse período, o arroz foi colocado em um recipiente com água esterilizada (1000 mL de água para cada 200 g de

arroz) e agitado por 10 min, a suspensão resultante foi coada e contou-se o número de esporos, com auxílio da câmara de Neubauer em um microscópio óptico. A suspensão apresentou $4,30 \times 10^7$ esporos mL^{-1} para *F. oxysporum* e $2,99 \times 10^7$ esporos mL^{-1} para *F. solani*. Em fevereiro de 2007, foram inoculados 20 mL da suspensão de esporos por vaso, incorporados nos dois primeiros centímetros da superfície do solo e, imediatamente, este foi umedecido com água. Para os tratamentos com inoculação das duas espécies, conjuntamente, foram aplicados 10 mL de suspensão para cada espécie.

Avaliações em plantas:

Após a inoculação de *Fusarium* spp. até o final do experimento (8 meses), foram realizadas avaliações semanais analisando-se, visualmente, o aparecimento de sintomas na parte aérea de cada muda como: clorose, necrose, murcha, amarelecimento, encarquilhamento e queda de folhas, atribuindo notas para o grau de severidade de cada um (Tabela 2).

Tabela 2 – Notas atribuídas aos graus de severidade de cada sintoma observado.

Notas*	Graus de severidade
0	Ausência de sintoma
1	01 a 20 %
2	21 a 40 %
3	41 a 60 %
4	61 a 80 %
5	81 a 100 %

* Em caso de variação da nota, para mais ou para menos, ao longo do tempo de avaliação optou-se pela nota maior. **Fonte:** adaptado de Poletto et al. (2006a).

Ao final do experimento, em outubro de 2007, foram medidos o diâmetro do colo das mudas com o auxílio de um paquímetro digital (precisão 0,01 cm), a altura a partir do colo com uma régua (precisão 0,01 cm), e realizada a contagem do número de folhas. A parte aérea das mudas foi separada da radicular, embalada em sacos de papel, colocada para secar em uma estufa de circulação de ar a 70°C até atingir peso constante e pesada em balança analítica de precisão 0,01 g para determinação da biomassa seca aérea (BMA).

As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, analisadas, visualmente, quanto à presença de necrose, e foram atribuídas notas para o grau de severidade (Tabela 2). Após analisadas, foram embaladas em sacos de papel, secas e pesadas para determinação da biomassa seca radicular (BMR). A biomassa seca total (BMT) foi obtida pela soma das BMA e BMR.

Antes da secagem, foi retirada uma amostra do caule e da raiz de cada muda, colocada em câmara úmida em caixas “gerbox” e mantida na câmara de incubação a 24°C com fotoperíodo de 12 h por 6 dias. Após esse período, foi observado o desenvolvimento ou não de *Fusarium* spp. nas amostras, com auxílio de um microscópio estereoscópico. Depois de analisadas, as amostras foram secas, pesadas, e o valor obtido somado ao restante do peso da muda.

Avaliações no solo:

Coletou-se uma amostra de solo de cada repetição constituinte do tratamento e, após homogeneização das cinco amostras, foi retirada uma amostra composta (200 g) para a realização de análise química no Laboratório Central de Análises de Solo da UFSM. Amostras (50 g) foram retiradas, da mesma maneira, para a determinação e contagem da população fúngica do solo, e embaladas individualmente em sacos plásticos (dimensões 10 x 15 cm), que foram vedados e armazenados em geladeira a 4°C imediatamente após a coleta até sua análise.

Para a determinação da população fúngica, 10 g de solo de cada tratamento foram diluídos em 90 mL de água destilada e esterilizada, juntamente com 2 gotas do emulsificante Tween 80, agitado por 2 min e, partindo dessa suspensão-mãe, foram feitas outras diluições seqüenciais 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 mL placa⁻¹) contendo meio 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 6 dias a 24°C, com fotoperíodo de 12 h 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 & HUNTER, 1999). O número de unidades formadoras de colônia (UFCs) de cada gênero fúngico presente foi determinado através das seguintes equações (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 por grama de solo

n = Número de colônias contadas na placa

Procedimento estatístico:

Os dados obtidos nos parâmetros de crescimento foram submetidos à análise da variância para verificação da significância e, em caso positivo, foi aplicada análise de regressão ou comparação de médias com teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Os dados obtidos da contagem do número de folhas e da população fúngica do solo foram transformados para Raiz ($x + k$) com $k = 0,5$ para aproximação da curva normal. Para essas análises, foi utilizado o software estatístico SANEST (ZONTA et al., 1984).

Os valores obtidos das notas atribuídas a cada sintoma foram submetidos à análise da variância pelo teste de Kruskal-Wallis e o teste de Mann-Whitney para comparação entre tratamentos (CARNELUTTI FILHO et al., 2001). Para essas análises, foi utilizado o software estatístico STATISTICA 6.0.

3.2.2 Estudo 2 – Efeito da intensidade de sombreamento na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate

O experimento foi instalado no viveiro florestal pertencente ao Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria.

Delineamento experimental:

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 5 (Fator F: inoculação de *Fusarium* spp.; Fator B: níveis de sombreamento), totalizando dez tratamentos, com quatro repetições de duas mudas cada.

Os níveis dos fatores foram assim compostos:

Fator F:

FOS: inoculação de *F. oxysporum* e *F. solani* juntos.

SF: sem inoculação.

Fator B:

B0: 0% – a pleno sol.

B1: 26% de sombreamento.

B2: 41% de sombreamento.

B3: 84% de sombreamento.

B4: 95% de sombreamento.

Material utilizado:

As espécies *Fusarium oxysporum* (isolado 12.4a) e *F. solani* (isolado 4.4) utilizados neste estudo pertencem ao Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária/CCR/UFSM. Estes isolados foram escolhidos pela sua patogenicidade e por estarem presentes em todos os ervais estudados por Poletto et al. (2006a).

Para obter os níveis de sombreamento, as mudas permaneceram sob capelas de sombrite com diferentes graus de permeabilidade de luz e expostas à luz solar durante todo o dia (Apêndice 4 C e D). A intensidade de sombreamento sob as capelas foi determinada com um luxímetro digital com cinco medidas, em diferentes meses.

O solo (não-classificado) utilizado no experimento foi coletado em um horizonte A (0-15 cm), peneirado (malha 0,5 cm) e seco à sombra. Depois de homogeneizado, foi coletada uma amostra e esta analisada quimicamente no Laboratório Central de Análises de Solo da UFSM. De posse dos resultados da análise (Tabela 3), optou-se em não aplicar adubação complementar, pois estava de acordo com a recomendação da Comissão de Química e Fertilidade do Solo (2004) para a espécie.

Tabela 3 – Análise química do solo utilizado no experimento.

MO	Argila	pH	Índice	P*	K*	Ca	Mg	Al	CTC _{pH7,0}	V	m
g dm ⁻³	H ₂ O	SMP	mg dm ⁻³	mg dm ⁻³	cmol _c dm ⁻³					%	
28	250	5,4	6,1	14	84	5,8	1,9	0	11,7	68	0

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

Instalação do experimento:

Para acondicionar o solo, foram utilizados sacos plásticos pretos com dimensões 18 x 25 cm. Em setembro de 2006, as mudas de erva-mate, doadas por um viveiro particular do município de Anta Gorda, RS, todas com o mesmo tamanho (quatro folhas e 5 cm de altura partindo do colo), foram repicadas e permaneceram por um mês em casa de vegetação e, em seguida, foram transferidas para as capelas onde permaneceram até o final do experimento. A irrigação foi realizada manualmente com água de poço artesiano.

Produção do inóculo:

O método de preparo do inóculo de *Fusarium* e a quantidade utilizada nesse experimento foram os mesmos descritos no experimento anterior (Estudo 1). Em fevereiro de 2007, foram inoculados 20 mL da suspensão de esporos por vaso (10 mL de cada espécie), incorporados nos dois primeiros centímetros da superfície do solo e, imediatamente, este foi umedecido com água.

Avaliações em plantas:

Após a inoculação do *Fusarium* spp. até o final do experimento, foram realizadas avaliações semanais analisando-se, visualmente, o aparecimento de sintomas na parte aérea de cada muda como: clorose, necrose, murcha, amarelecimento, encarquilhamento e queda de folhas, atribuindo notas para o grau de severidade de cada um (Tabela 2).

Ao final do experimento (8 meses), em outubro de 2007, foram medidos, o diâmetro do colo com o auxílio de um paquímetro digital (precisão 0,01 cm), a altura da muda partindo do colo, com uma régua (precisão 0,01 cm), e realizada a contagem do número de folhas. Em seguida, as mudas foram arrancadas e a parte aérea destas foi separada da radicular, embalada em sacos de papel e colocada para secar em uma estufa de circulação de ar a 70°C, até atingirem peso constate e após, pesadas em balança analítica de precisão 0,01 g para determinação da biomassa seca aérea (BMA). As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, analisadas visualmente quanto à presença de necrose, e foram atribuídas notas para o grau de severidade (Tabela 2). Após analisadas, foram embaladas em sacos de papel, secas e pesadas para determinação da biomassa seca radicular (BMR). A biomassa seca total (BMT) foi obtida pela soma das BMA e BMR.

Antes da secagem, foi retirada uma amostra do caule e da raiz de cada muda, colocada em câmara úmida nas caixas “gerbox” e mantida na câmara de incubação a 24°C com fotoperíodo de 12 h por 6 dias. Após esse período, foi observado o desenvolvimento ou não de *Fusarium* spp. nas amostras com auxílio de um microscópio estereoscópico. Depois de

analisadas, as amostras foram secas, pesadas, e o valor obtido somado ao restante do peso da muda.

Avaliações no solo:

Coletou-se uma amostra de solo (200 g), composta por todos os tratamentos, e encaminhada ao Laboratório Central de Análises de Solo da UFSM para análise química. Amostras (50 g) foram retiradas, da mesma maneira, para a determinação e contagem da população fúngica do solo, e embaladas individualmente em sacos plásticos (dimensões 10 x 15 cm), que foram vedados e armazenados em geladeira a 4°C imediatamente após a coleta até sua análise.

Para a determinação da população fúngica, 10 g de solo de cada tratamento foram diluídos em 90 mL de água destilada e esterilizada, juntamente com 2 gotas do emulsificante Tween 80, agitado por 2 min e, partindo dessa suspensão-mãe, foram feitas outras diluições sequenciais 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 mL placa⁻¹) contendo meio 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 6 dias a 24°C, com fotoperíodo de 12 h 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 & HUNTER, 1999). O número de unidades formadoras de colônia (UFCs) de cada gênero fúngico presente foi determinado através das seguintes equações (CARTER, 1993) já descritas no estudo anterior (Estudo 1).

Procedimento estatístico:

Os dados obtidos nos parâmetros de crescimento foram submetidos à análise da variância para verificação da significância e, em caso positivo, foi aplicada análise de regressão ou comparação de médias com teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Os dados obtidos da contagem do número de folhas e da população fúngica do solo foram transformados para Raiz ($x + k$) com $k = 0,5$ para aproximação da curva normal. Para essas análises, foi utilizado o software estatístico SANEST (ZONTA et al., 1984).

Os valores obtidos das notas atribuídas a cada sintoma foram submetidos à análise da variância pelo teste de Friedman e comparação entre tratamentos pelo teste da Soma das Ordens de Wilcoxon (CARNELUTTI FILHO et al., 2001). Para essas análises, foi utilizado o software estatístico STATISTICA 6.0.

3.2.3 Estudo 3 – Eficiência de produtos comerciais para controle biológico da podridão-de-raízes da erva-mate

O experimento foi instalado na casa de vegetação pertencente ao Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria, em condições de ambiente não-controlado.

Delineamento experimental:

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4 (Fator F: inoculação de *Fusarium* spp.; Fator B: bioprotetores comerciais de controle biológico) totalizando 16 tratamentos, com cinco repetições compostas por uma muda cada.

Os níveis dos fatores foram assim compostos:

Fator F:

FO: inoculação de *Fusarium oxysporum*.

FS: inoculação de *Fusarium solani*.

FOS: inoculação de *Fusarium oxysporum* e *F. solani* juntos.

SF: sem inoculação.

Fator B:

B1: aplicação de Agrotic[®].

B2: aplicação de Biotric[®].

B3: aplicação de Bacsol[®].

B4: sem aplicação;

Material utilizado:

As espécies *Fusarium oxysporum* (isolado 12.4a) e *F. solani* (isolado 4.4) utilizados neste estudo pertencem ao Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Defesa Fitossanitária/CCR/UFSM. Estes isolados foram escolhidos pela sua patogenicidade e por estarem presentes em todos os ervais estudados por Poletto et al. (2006a).

As informações referentes aos produtos comerciais Agrotic[®], Biotric[®] e Bacsol[®] utilizados neste estudo encontram-se no Apêndice 5.

O solo utilizado no experimento foi coletado em um horizonte A (0-15 cm) (não-classificado), peneirado (malha 0,5 cm) e seco à sombra. Depois de homogeneizado, foi coletada uma amostra e analisada quimicamente no Laboratório Central de Análises de Solo

da UFSM. De posse dos resultados da análise (Tabela 3, Estudo 2), optou-se em não aplicar adubação complementar.

Instalação do experimento:

Para acondicionar o solo, foram utilizados vasos de polietileno preto vedados para evitar perda de nutrientes e, em cada vaso, foram adicionados 2 kg de solo seco. Para saber a quantidade de água a ser repostada em cada vaso, foi determinada a capacidade de campo do solo, segundo o método descrito pela Embrapa (1997). A reposição foi feita com água de poço artesiano, manualmente em cada vaso. Para evitar possíveis influências do meio, os vasos foram alternados a cada vinte dias e pesados para calibração da umidade. Em setembro de 2006, as mudas de erva-mate, doadas por um viveiro particular do município de Anta Gorda, RS, foram repicadas para os vasos, todas com o mesmo tamanho (quatro folhas e 5 cm de altura partindo do colo).

Produção do inóculo:

O método de preparo do inóculo de *Fusarium* e a quantidade utilizada nesse experimento foram os mesmos descritos no experimento anterior (Estudo 1). Em fevereiro de 2007, foram inoculados 20 mL da suspensão de esporos por vaso, incorporados nos dois primeiros centímetros da superfície do solo e, imediatamente, este foi umedecido com água.

Em abril de 2007, quando as mudas começaram a apresentar sintomas do ataque de *Fusarium* spp., foram inoculados os produtos comerciais de biocontrole, na quantidade de 4 g vaso⁻¹, incorporados nos dois primeiros centímetros da superfície do solo e, imediatamente, este foi umedecido com água.

Avaliações em plantas:

Após a inoculação de *Fusarium* spp. até o final do experimento, foram realizadas avaliações semanais analisando-se, visualmente, o aparecimento de sintomas na parte aérea de cada muda como: clorose, necrose, murcha, amarelecimento, encarquilhamento e queda de folhas, atribuindo notas de para o grau de severidade de cada um (Tabela 2).

Ao final do experimento (8 meses), em outubro de 2007, foram medidos o diâmetro do colo com o auxílio de um paquímetro digital (precisão 0,01 cm), a altura da muda partindo do colo com uma régua (precisão 0,01 cm), e realizada a contagem do número de folhas. Em seguida, a parte aérea das mudas foi separada da radicular, embalada em sacos de papel e colocada para secar em uma estufa de circulação de ar a 70°C, até atingir peso constante e após, pesada em balança analítica de precisão 0,01 g para determinação da biomassa seca aérea (BMA). As raízes foram lavadas em água corrente e, em seguida, analisadas visualmente quanto à presença de necrose, e foram atribuídas notas para o grau de severidade

(Tabela 2). Após analisadas, as mudas foram embaladas em sacos de papel, secas e pesadas para determinação da biomassa seca radicular (BMR). A biomassa seca total (BMT) foi obtida pela soma das BMA e BMR.

Antes da secagem, foi retirada uma amostra do caule e da raiz de cada muda, colocada em câmara úmida nas caixas “gerbox” e mantida na câmara de incubação a 24°C, com fotoperíodo de 12 h por 6 dias. Após esse período, foi observado o desenvolvimento ou não de *Fusarium* spp. nas amostras, com auxílio de um microscópio estereoscópico. Depois de analisadas, as amostras foram secas, pesadas e o valor obtido somado ao restante do peso da muda.

Avaliações no solo:

Foi coletada uma amostra de solo (200 g), composta por todos os tratamentos, e encaminhada ao Laboratório Central de Análises de Solo da UFSM para análise química. Amostras (50 g) foram retiradas, da mesma maneira, para a determinação e contagem da população fúngica do solo, e embaladas individualmente em sacos plásticos (dimensões 10 x 15 cm), que foram vedados e armazenados em geladeira a 4°C imediatamente após a coleta até sua análise.

Para a determinação da população fúngica, 10 g de solo de cada tratamento foram diluídos em 90 mL de água destilada e esterilizada, juntamente com 2 gotas do emulsificante Tween 80, agitado por 2 min e, partindo dessa suspensão-mãe, foram feitas outras diluições seqüenciais 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 mL placa⁻¹) contendo meio 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 6 dias a 24°C, com fotoperíodo de 12 h 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 & HUNTER, 1999). O número de unidades formadoras de colônias (UFCs) de cada gênero fúngico presente foi determinado pelas equações (CARTER, 1993) já descritas no estudo anterior (Estudo 1).

Procedimento estatístico:

Os dados obtidos nos parâmetros de crescimento foram submetidos à análise da variância para verificação da significância e, em caso positivo, foi aplicada comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Os dados obtidos da contagem do número de folhas e da população fúngica do solo foram transformados para Raiz ($x + k$) com

$k = 0,5$ para aproximação da curva normal. Para essas análises, foi utilizado o software estatístico SANEST (ZONTA et al., 1984).

Os valores obtidos das notas atribuídas a cada sintoma foram submetidos à análise da variância pelo teste de Kruskal-Wallis e o teste de Mann-Whitney para comparação entre tratamentos (CARNELUTTI FILHO et al., 2001). Para essas análises, foi utilizado o software estatístico STATISTICA 6.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo 1 – Efeito do NPK e do pH do solo na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate

4.1.1 Efeito dos tratamentos na disponibilidade de nutrientes

Na Tabela 4, são apresentados os valores obtidos na análise química do solo para cada tratamento ao final do experimento.

Tabela 4 – Análise química do solo ao final do experimento em função da calagem (Fator C) e da adubação NPK (Fator A).

Trat.	MO	Argila	pH	Índice	P*	K*	Al	Ca	Mg	CTC	V	m
	g dm ⁻³		H ₂ O	SMP	mg dm ⁻³		cmolc dm ⁻³			pH _{7,0}	%	
Inicial	19	300	4,8	5,0	6,0	36	6,3	0,9	0,4	15,1	9	82
C0 A0	20	325	4,6	4,9	2,4	38	5,7	4,0	1,7	22,4	26,0	50,0
C0 A1	20	328	4,5	4,7	2,4	37	5,9	3,8	1,7	26,0	22,8	51,5
C0 A2	19	325	4,5	4,6	2,6	39	5,8	3,7	1,6	27,5	19,8	52,0
C0 A3	20	325	4,6	5,0	3,0	40	6,0	3,5	1,6	19,8	25,8	54,3
C1 A0	20	320	5,1	6,0	2,8	41	0,7	8,4	5,3	18,5	74,3	5,0
C1 A1	20	320	5,4	6,2	2,8	46	0,1	8,7	5,4	17,6	80,5	0,8
C1 A2	19	328	5,5	6,3	3,0	50	0,1	9,0	5,4	17,8	81,8	0,5
C1 A3	20	320	5,5	6,3	3,0	61	0,2	9,1	5,3	18,0	81,5	0,9
C2 A0	19	315	6,0	6,7	2,6	42	0,0	11,1	5,4	18,6	89,0	0
C2 A1	19	338	6,2	6,9	2,6	49	0,0	10,6	5,3	17,7	90,8	0
C2 A2	18	300	6,2	6,8	2,8	58	0,0	10,9	5,4	18,2	90,3	0
C2 A3	19	308	6,2	6,9	3,0	71	0,0	11,0	5,3	18,2	90,8	0

Em que: **Inicial** = laudo da análise de solo realizado antes da aplicação dos tratamentos; **MO** = Matéria Orgânica; **m** = Saturação por Alumínio; **V** = Saturação por bases; * = Extrator Mehlich I; (**C0** – 0, **C1** – 8,79 e **C2** – 13,18 g de calcário kg⁻¹ de solo) = níveis de calagem; (**A0** – 0,0, **A1** – 45,7, 10,0 e 57,0, **A2** – 91,4, 20,0 e 114,0 e **A3** – 137,1, 30,0 e 171,0 mg kg⁻¹ de solo, de N, P e K, respectivamente) = níveis de adubação.

Interpretando os resultados obtidos na Tabela 4, de acordo com o Manual de Adubação e Calagem para os Estados do RS e SC (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004), observa-se que após a aplicação dos tratamentos e

crescimento das mudas da erva-mate, o solo apresentou as características que serão descritas a seguir.

A matéria orgânica obtida é considerada baixa antes e após a aplicação dos tratamentos e condução do experimento, ficando os teores em torno de 2%. 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, esta é gerada partindo da decomposição dos resíduos de plantas e animais, sendo formada por diversos compostos de carbono em vários graus de alteração e interação com as outras fases do solo. Apesar de compor menos de 5% da maioria dos solos, 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 e, conseqüentemente, sua produtividade.

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 do 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).

O nutriente fósforo, antes da aplicação dos tratamentos, era considerado baixo (6,0) no solo e ao final do experimento, os teores encontrados foram considerados como muito baixos (em média 2,8) em todos os tratamentos, inclusive naqueles nos quais se adicionou o nutriente. Sugere-se como causa o fato de que o solo natural possui baixos teores de fósforo, proporcionando uma maior quantidade de sítios de adsorção nos colóides de solo e, as quantidades do nutriente adicionadas, em função dos tratamentos, foram adsorvidas por estes colóides, ficando, o fósforo, com baixos teores, na solução do solo. Outra explicação pode ser devido ao fato das plantas terem absorvido o fósforo que permaneceu disponível.

O P é um nutriente que geralmente apresenta problemas, devido, sobretudo, em conseqüência dos seus baixos teores na maioria dos solos usados para agricultura no Brasil, e também as interações que realiza com as partículas de solo, tornando-se adsorvido e indisponível para as plantas. A disponibilidade do P depende dos fatores que afetam o movimento deste da 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 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 ao aumento da concentração dos íons OH^- que podem deslocar o fósforo adsorvido na superfície dos minerais para a solução do solo. Mas 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 & BISSANI, 2004).

O nutriente K, na análise de solo inicial, era considerado baixo (36), ao término do experimento continuou sendo baixo (em média 44), inclusive para o solo dos tratamentos que receberam adição do nutriente, exceto para C1A3 e C2A3, em que os teores encontrados são considerados médios (61 e 71, respectivamente). Fatores físicos, químicos e biológicos do solo podem afetar a quantidade disponível de potássio a curto, médio e longo prazos. Entre 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 & 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), a disponibilidade do potássio é interpretada de acordo com a Capacidade de Troca de Cátions à pH 7,0 (CTC $\text{pH}_{7,0}$), também chamada de CTC potencial, que é alta no solo, antes e após a aplicação dos tratamentos. 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 & INDA Jr., 2004).

Interpretando os resultados obtidos na análise de solo e considerando que, mesmo tendo sido aplicado K, o teor continuou baixo na maioria dos tratamentos, sugere-se como causa a absorção pelas mudas de erva-mate, pois, nos tratamentos nos quais se aplicou NPK, as plantas cresceram e se desenvolveram melhor e, conseqüentemente, absorveram maior quantidade de nutrientes, fazendo com que os teores no solo, ao final do experimento, continuassem baixos. Nos tratamentos C1A3 e C2A3, que ao final do experimento apresentaram teores médios de K, a maior adição do nutriente é que resultou nesse teor final.

Segundo Meurer & Inda Jr. (2004), a elevação do pH aumenta a quantidade de cargas negativas e, assim, há maior retenção de K e de outros cátions na fase sólida do solo. Isso

explica o porquê de maiores adições, como nos tratamentos com A3, não terem resultado em maiores teores ao final do experimento. Ainda, fatores da planta como a morfologia do sistema radicular e o poder de absorção de nutrientes pelas raízes afetam as quantidades de K que podem ser absorvidas por elas e, conseqüentemente, o rendimento. Plantas que apresentam sistema radicular bem desenvolvido, abundância de raízes finas e de pêlos absorventes, são mais eficientes em absorver o K do solo.

Os teores de cálcio no solo original foram baixos (0,9), depois da aplicação dos tratamentos passaram a ser médios (em média 3,8) para os sem calagem (C0) e altos (em média 9,9) para os demais tratamentos (com calagem). Os teores de magnésio no solo inicial também foram baixos (0,4) e após a aplicação dos tratamentos passaram a ser altos (em média 4,1). Os teores de Ca e Mg contribuem expressivamente na saturação de bases (V%) obtidas neste estudo. Os valores da saturação de bases foram muito baixos no solo original (9) e nos tratamentos sem calagem (em média 23,6), médio para o tratamento C1A0 (74,3) e altos para os demais tratamentos (em média 83,4). Como a V% é obtida, basicamente pela soma dos elementos Ca, Mg e K, seguiu um comportamento semelhante ao dos teores desses elementos. Quanto maiores os valores da saturação por bases melhor, pois esta é uma das condicionantes da produtividade do solo.

O pH em água é muito baixo antes e para todos os tratamentos C0 (sem calagem) (em média 4,6), baixo para C1A0 e C1A1 (em média 5,2), médio para C1A2, C1A3 e C2A0 (em média 5,7), e alto para os demais tratamentos com C2 (em média 6,2). O aumento do pH do solo em razão da calagem é o efeito esperado por tal prática. O cálcio e magnésio contidos no calcário usado na calagem, além de aumentar o pH do solo, reduzindo a acidez deste, diminuem a toxidez por alumínio, como pode ser observado claramente na Tabela 4. À medida que aumenta o pH do solo e os teores de Ca e Mg, diminuem os teores de Al e a saturação por Al (m%). Os valores da saturação por Al no solo, antes da aplicação dos tratamentos e nos tratamentos sem calagem (C0), são altos (em média 58), baixo no tratamento C1A0 (5) e muito baixo para os demais tratamentos (em média 0,3).

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 & BISSANI, 2004).

4.1.2 Efeito dos tratamentos na incidência e severidade da doença

A quantificação da doença é condição primordial em epidemiologia. O sucesso no estabelecimento de medidas de manejo está diretamente ligado a quantificação da doença, sendo, no contexto fitopatológico, o ato de quantificar a sua intensidade. Há duas formas de avaliar a intensidade: incidência e severidade. Incidência é a proporção de plantas ou de órgãos doentes. Severidade é a proporção de área ou de tecido doente, a qual pode ser quantificada com escalas de notas equivalentes à severidade da doença ou sintoma (MAFFIA & MIZUBUTI, 2005).

Observou-se a manifestação de diferentes sintomas na parte aérea e nas raízes das mudas em consequência da aplicação dos diferentes tratamentos. Os sintomas que mais se destacaram na parte aérea foram: clorose, necrose, encarquilhamento e queda de folhas e, nas raízes, necrose. Esporadicamente, apareceram, em algumas mudas amarelecimento de folhas e estagnação do crescimento, porém, esses sintomas não foram constantes durante o período de avaliação e, por isso, não foram quantificados. Exemplos desses sintomas podem ser observados no Apêndice 6.

Nas plantas, a necrose é causada pela degeneração do protoplasma, seguida de morte de células, tecidos e órgãos. Clorose é a denominação do sintoma de esmaecimento do verde em órgãos clorofilados, também é decorrente da falta de clorofila. Encarquilhamento e epinastia das folhas são ocasionados pelo crescimento desordenado de células, causando deformação dos tecidos, curvando a folha para baixo ou para cima (AMORIM & SALGADO, 1995). Neste experimento, o encarquilhamento das folhas é a soma do encarquilhamento e da epinastia.

A análise da variância para os tratamentos sem inoculação de *Fusarium* (SF) mostrou efeito significativo para os sintomas de clorose ($p=0,00001$), encarquilhamento de folhas ($p=0,00001$), necrose de raízes ($p=0,00001$), necrose de folhas ($p=0,001$) e para a soma total dos sintomas ($p=0,00001$) e não-significativa para a queda de folhas ($p=0,7376$), em função

da combinação dos fatores C (calagem) e A (adubação NPK). A representação gráfica das notas atribuídas para esses sintomas pode ser observada nas Figuras 1, 2 e 3 (colunas pretas).

Observou-se que o teste de Mann-Whitney não foi satisfatório para comparação entre tratamentos. Por esse teste, não se obteve diferenças significativas, provavelmente efeito do pequeno intervalo de notas (0 a 5) atribuídas aos sintomas e, pelo fato de, na maioria das vezes, as cinco repetições de cada tratamento receberem notas heterogêneas, o que contribuiu para a não-detecção de diferenças significativas.

Na Figura 1, pode-se observar os gráficos das notas atribuídas aos tratamentos inoculados com *Fusarium oxysporum* (colunas cinza) em função da combinação dos fatores C (calagem) e A (adubação NPK). A análise da variância mostrou efeito significativo para os sintomas de clorose ($p=0,00001$), encarquilhamento de folhas ($p=0,0001$), queda de folhas ($p=0,0004$), necrose de folhas ($p=0,0004$) e para a soma total dos sintomas ($p=0,00001$) e não-significativo para a necrose de raízes ($p=0,2783$).

Para o sintoma clorose (Figura 1 A), observa-se que este foi comum em ambos os tratamentos, inoculados e não-inoculados. As maiores notas atribuídas a este sintoma foram nos tratamentos com calagem (C1 e C2), já nos sem calagem, praticamente não houve manifestação do sintoma, obtendo estes as menores notas.

As notas atribuídas ao sintoma necrose de folhas (Figura 1 B) foram maiores nos tratamentos com maior calagem (C2), e também com as maiores adubações (A2 e A3). Ambos os tratamentos, inoculados e não-inoculados, apresentaram o sintoma, porém, com uma superioridade de 35%, em média, para os tratamentos inoculados.

O encarquilhamento das folhas (Figura 1 C) foi observado somente nos tratamentos com calagem (C1 e C2) e quanto maior a dose de calcário adicionada, mais severo foi o sintoma. Nota-se que, nos tratamentos inoculados, as notas foram, na média, 17% maiores do que a dos não-inoculados.

Para o sintoma queda de folhas (Figura 1 D), houve grandes diferenças entre as notas atribuídas aos tratamentos inoculados e não-inoculados, em média, os inoculados obtiveram notas 70% maiores que os não-inoculados. As maiores diferenças ocorreram nos tratamentos C2A2 e C2A3.

Observando somente os tratamentos sem inoculação de *Fusarium*, nota-se que, na ausência de calagem (C0), não foi observado manifestação de necrose de raízes (Figura 1 E), mas a medida de foi aplicada à calagem (C1 e C2), observou-se aumento na severidade do sintoma. Porém, nos tratamentos com inoculação de *Fusarium*, o sintoma se manifestou mesmo na ausência de calagem, embora com notas baixas, aumentando gradualmente, com o

aumento da calagem. Em média, as notas atribuídas aos tratamentos inoculados foram 39% superiores aos não-inoculados.

Na soma total dos sintomas (Figura 1 F), os tratamentos inoculados receberam notas, em média, 28% maiores que os não-inoculados. As maiores notas foram atribuídas aos tratamentos com maior calagem e adubação. Na Figura 1 G, observa-se o gráfico do número de mudas com ausência de sintomas. O único tratamento, que teve 100% de mudas saudias, foi o C0A1 não-inoculado, seguido pelo C0A1 inoculado com 75%. Os tratamentos com calagem (C1 e C2) não tiveram mudas saudias.

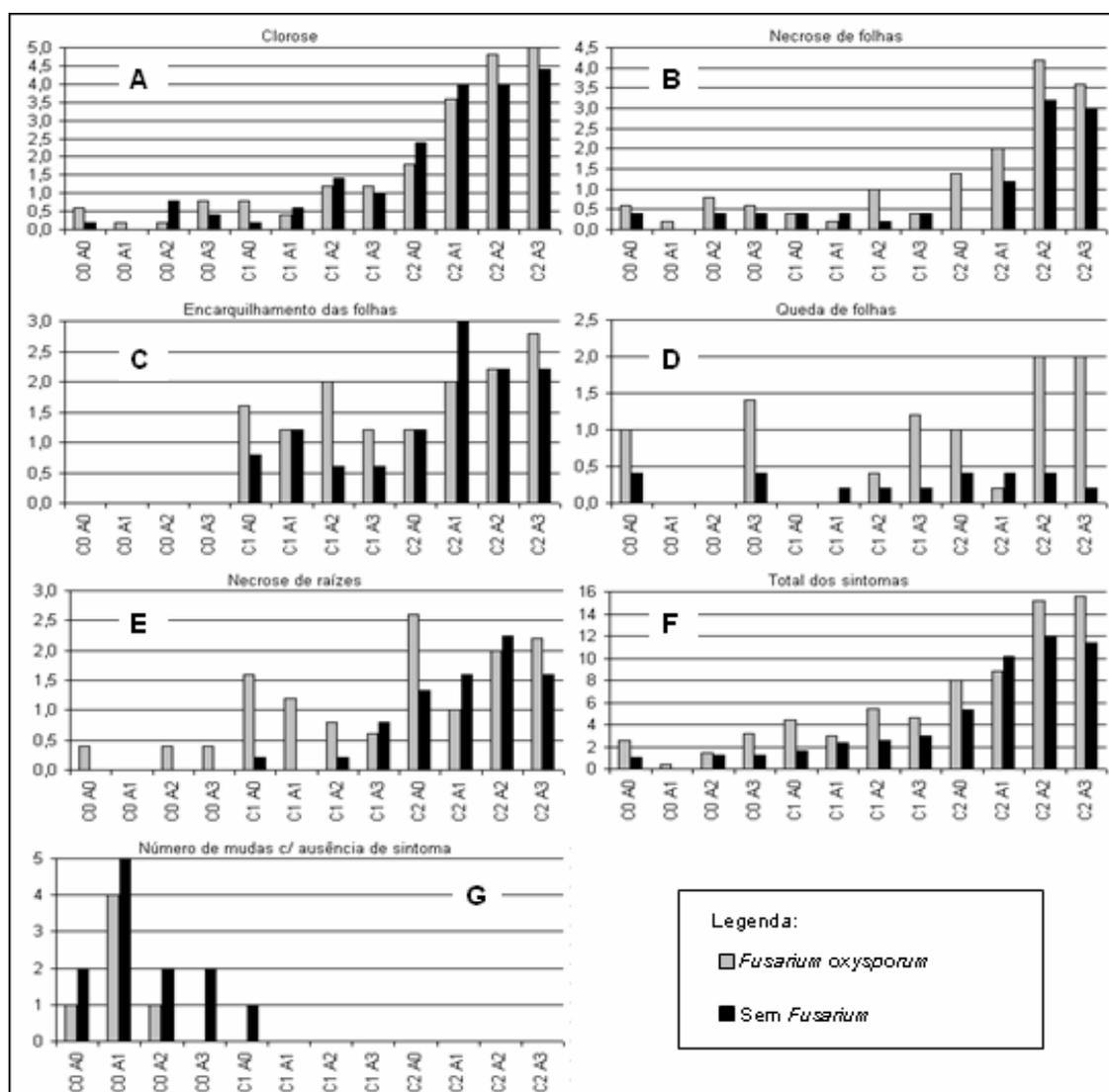


Figura 1 – Gráficos das notas atribuídas aos sintomas de clorose de folhas (A), necrose de folhas (B), encarquilhamento de folhas (C), queda de folhas (D), necrose de raízes (E), soma total dos sintomas (F) e número de mudas com ausência de sintomas (G), que se manifestaram nas mudas de erva-mate inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum*, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK). (C0, C1 e C2) = níveis de calagem; (A0, A1, A2 e A3) = níveis de adubação.

Analisando todas as variáveis conjuntamente (Figura 1), observa-se maior severidade dos sintomas nos tratamentos com maior calagem e adubação, indicando efeito tóxico de excesso de nutrientes às plantas. A ausência de sintomas no tratamento C0A1 não-inoculado indica ser esta a melhor adubação para a erva-mate, entre os tratamentos testados e, esse tratamento foi o que apresentou menor severidade dos sintomas entre os inoculados, mostrando que a planta nutrida satisfatoriamente desfavoreceu o ataque de *Fusarium oxysporum* quase que por completo. Outra análise possível é a de que, mesmo tendo variações entre tratamentos, no geral, as plantas com deficiência ou excesso de nutrientes foram mais propensas ao ataque de *F. oxysporum*.

Na Figura 2, pode-se observar os gráficos das notas atribuídas aos tratamentos inoculados com *Fusarium solani* (colunas cinza) em função da combinação dos fatores C (calagem) e A (adubação NPK). A análise da variância mostrou efeito significativo para os sintomas clorose ($p=0,00001$), encarquilhamento de folhas ($p=0,00001$), necrose de raízes ($p=0,0171$), necrose de folhas ($p=0,0068$) e para a soma total dos sintomas ($p=0,0001$) e não significativo para a queda de folhas ($p=0,0877$).

Para o sintoma clorose (Figura 2 A), a maior severidade foi observada nos tratamentos com maior calagem e adubação. Ambos os tratamentos, inoculados ou não, apresentaram sintomas e na média entre tratamentos, praticamente não apresentaram diferença (1%) nas notas.

Para a necrose de folhas (Figura 2 B), as maiores notas foram observadas nos tratamentos C2A1, C2A2 e C2A3, com notas em torno de 3. Nos demais tratamentos, as notas se mantiveram em torno de 0,5. Na média entre tratamentos, os inoculados receberam notas 22% superiores aos não-inoculados.

O encarquilhamento de folhas (Figura 2 C) foi observado somente nos tratamentos com calagem (C1 e C2), sendo a maior severidade nos tratamentos com C2. A maior severidade do sintoma alternou-se entre os tratamentos inoculados e não-inoculados, indicando que a presença desse sintoma é, sobretudo, dependente do pH. Os tratamentos inoculados tiveram as notas, em média, 16% maiores que os não-inoculados.

A queda de folhas (Figura 2 D) não teve efeito significativo entre tratamentos, as maiores notas ocorreram de forma aleatória, porém, observou-se que a média das notas atribuídas para os tratamentos inoculados foi 68% maior que os não-inoculados.

Para o sintoma necrose de raízes (Figura 2 E), a maior severidade foi observada nos tratamentos com maior calagem (C2) em detrimento aos sem calagem (C0) em que praticamente não houve manifestação. Houve alternância nas maiores notas entre os

tratamentos inoculados e não-inoculados, praticamente não havendo diferença na média das notas (7%).

Na soma total dos sintomas (Figura 2 F), a média das notas entre tratamentos inoculados foi 18% maior que os não-inoculados. O tratamento C0A1 (não-inoculado) não apresentou manifestação de sintomas e os tratamentos C2A1, C2A2 e C2A3 foram os que apresentaram as maiores notas.

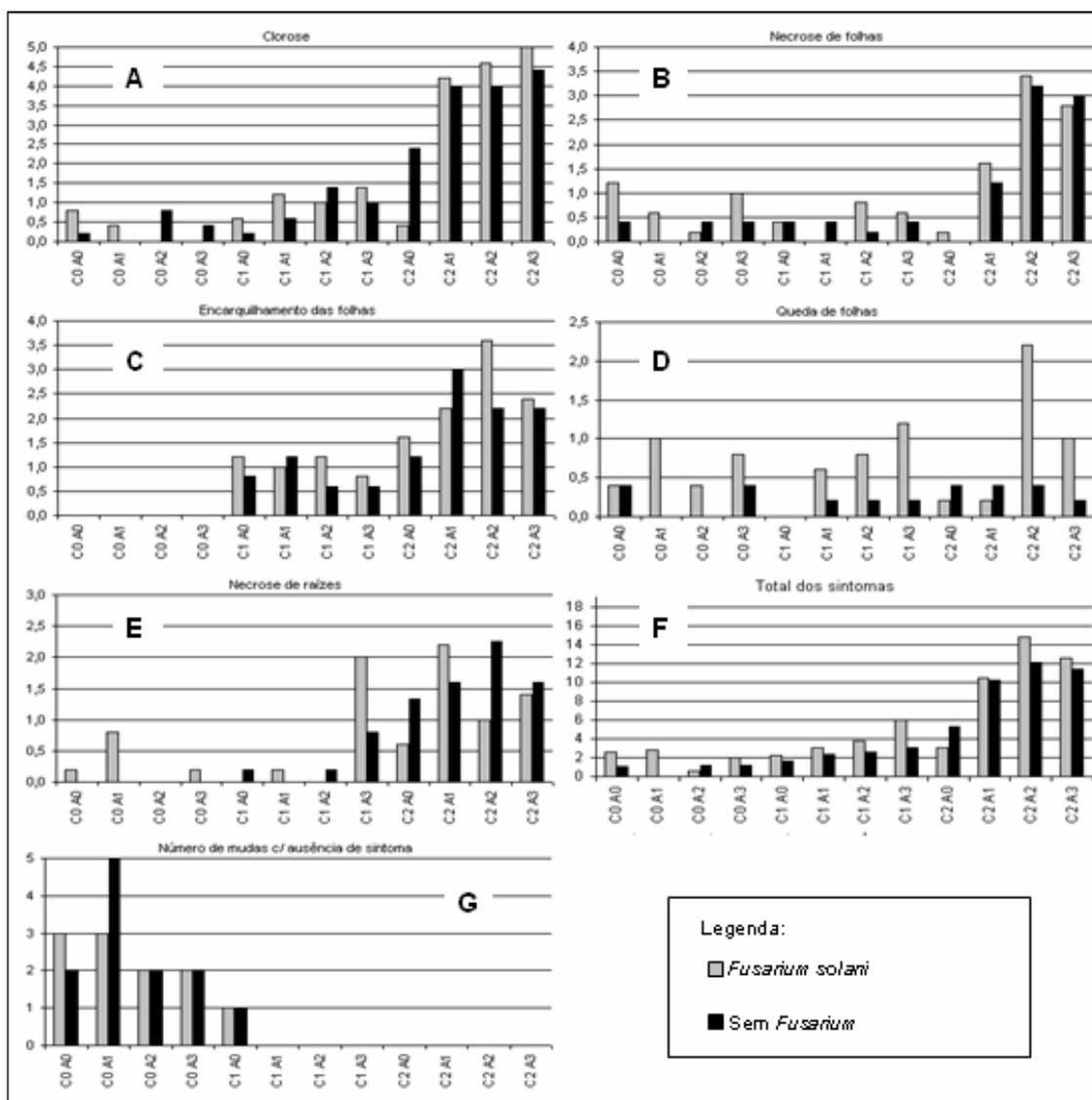


Figura 2 – Gráficos das notas atribuídas aos sintomas clorose de folhas (A), necrose de folhas (B), encarquilhamento de folhas (C), queda de folhas (D), necrose de raízes (E), total dos sintomas (F) e número de mudas com ausência de sintomas (G) que se manifestaram nas mudas de erva-mate inoculadas ou não com *Fusarium solani*, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK). (C0, C1 e C2) = níveis de calagem; (A0, A1, A2 e A3) = níveis de adubação.

Os tratamentos que apresentaram mudas sem sintomas (Figura 2 G) foram os sem calagem, em média, 40% dessas. O único tratamento que apresentou 100% de mudas sadias foi C0A1 não-inoculado.

Observa-se na Figura 2 que, mesmo tendo variações entre tratamentos, no geral, as plantas com excesso de nutrientes foram mais propensas ao ataque de *F. solani*. As maiores adubações, quando aplicadas juntamente com a calagem, proporcionaram maior severidade dos sintomas, indicando efeito tóxico de excesso de nutrientes às plantas. A ausência de sintomas no tratamento C0A1 não-inoculado indica ser esta a melhor adubação para a erva-mate entre os tratamentos testados. A menor severidade dos sintomas nos tratamentos inoculados foi observada nos tratamentos sem calagem (C0), indicando que a planta, quando nutrida adequadamente, não favorece o ataque de *Fusarium solani*.

Na Figura 3, pode-se observar os gráficos das notas atribuídas aos tratamentos inoculados com *Fusarium oxysporum* e *F. solani* juntos (colunas cinza) em função da combinação dos fatores C (calagem) e A (adubação NPK). A análise da variância mostrou efeito significativo para os sintomas de clorose ($p=0,00001$), encarquilhamento de folhas ($p=0,00001$), queda de folhas ($p=0,00001$), necrose de folhas ($p=0,0002$) e para a soma total dos sintomas ($p=0,0001$) e não significativo para a necrose de raízes ($p=0,0617$).

Para o sintoma clorose (Figura 3 A), a severidade foi maior à medida que aumentou a calagem e a adubação. Nota-se que o tratamento C2A3 inoculado, atingiu nota máxima e os tratamentos C0A0 e C0A1 praticamente não tiveram manifestação do sintoma. As notas atribuídas aos tratamentos inoculados, em média, foram 15% maiores que os não-inoculados.

A severidade da necrose das folhas (Figura 3 B) foi maior para os tratamentos C2A1, C2A2 e C2A3, já para os demais tratamentos, as notas foram semelhantes, permanecendo em torno de 0,5. Em média, as notas atribuídas aos tratamentos inoculados foram 38% superiores aos não-inoculados.

As notas atribuídas ao sintoma encarquilhamento de folhas (Figura 3 C) foram maiores à medida que aumentou a calagem, em detrimento aos tratamentos sem calagem que não apresentaram manifestação do sintoma. Em média, os tratamentos inoculados receberam notas 23% superiores aos não-inoculados.

Para o sintoma queda de folhas (Figura 3 D), observou-se maior severidade nos tratamentos C2A2 e C2A3 inoculados. Na média dos tratamentos, os inoculados receberam notas 63% superiores aos não-inoculados.

As notas atribuídas à necrose de raízes (Figura 3 E) nos tratamentos inoculados foram em média 51% superiores aos não-inoculados. Os tratamentos sem calagem (C0) e

não-inoculados não apresentaram manifestação do sintoma. Nota-se, também, que os tratamentos C0A1 e C0A2 não apresentaram manifestação do sintoma.

Na soma total dos sintomas (Figura 3 F), os tratamentos inoculados apresentaram notas 34% superiores aos não-inoculados. As maiores notas foram observadas nos tratamentos com maior calagem.

Os tratamentos C0A0, C0A1 e C0A2 (inoculados) apresentaram 40%, em média, de mudas sadias (Figura 3 G).

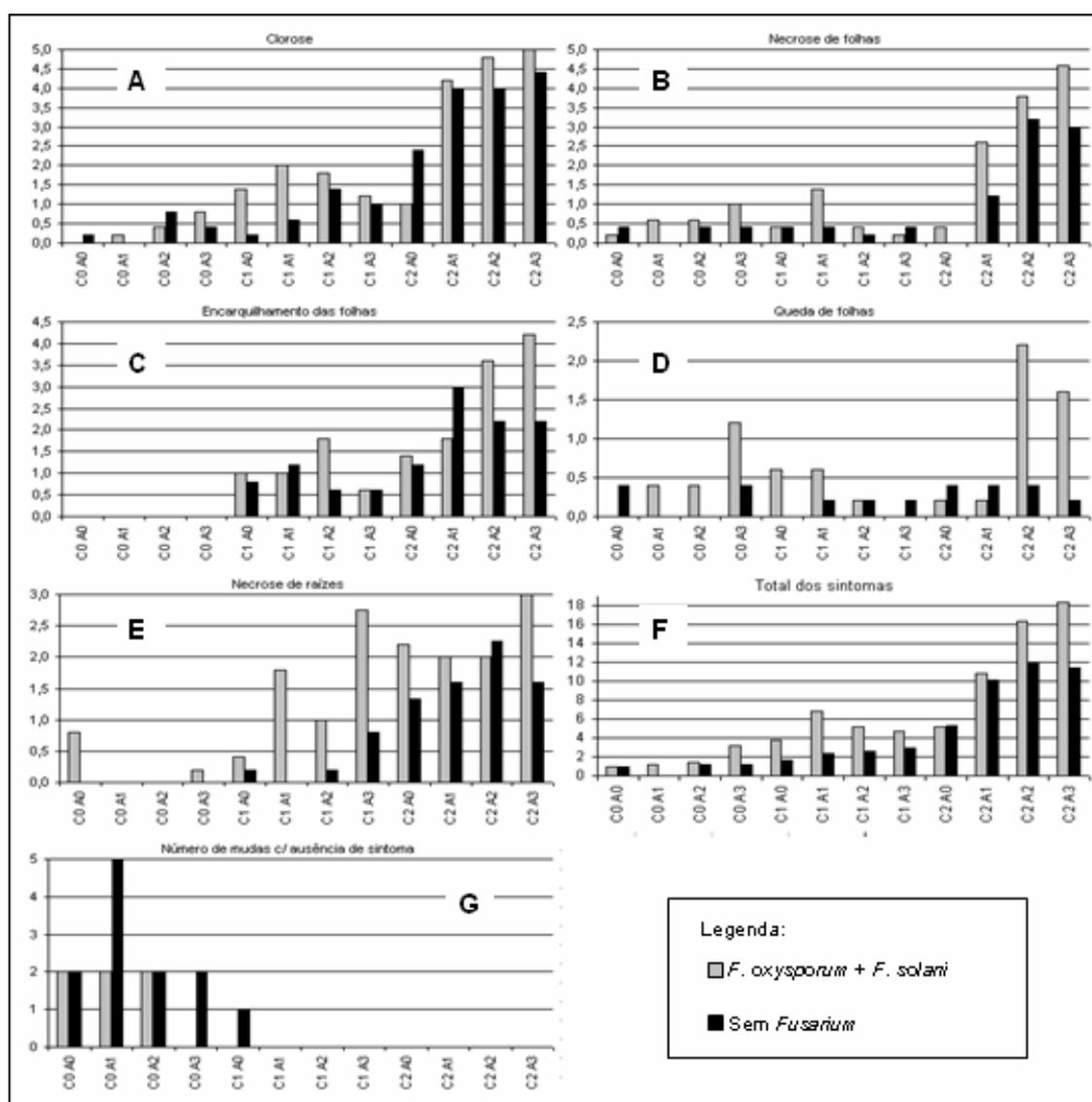


Figura 3 – Gráficos das notas atribuídas aos sintomas clorose de folhas (A), necrose de folhas (B), encarquilhamento de folhas (C), queda de folhas (D), necrose de raízes (E), total dos sintomas (F) e número de mudas com ausência de sintomas (G) que se manifestaram nas mudas de erva-mate inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK). (C0, C1 e C2) = níveis de calagem; (A0, A1, A2 e A3) = níveis de adubação.

Os sintomas encarquilhamento de folhas, clorose e necrose folhar, amarelecimento, queda de folhas e necrose do sistema radicular, observados neste estudo, foram os mesmos encontrados por Poletto et al. (2006a), em testes de patogenicidade de *Fusarium oxysporum* e *F. solani* em mudas de erva mate. No geral, a severidade dos sintomas observados neste experimento foi maior nos tratamentos inoculados em comparação aos tratamentos não-inoculados, para ambas as espécies de *Fusarium* e também quando inoculadas juntas (Figura 1, 2 e 3), comprovando a patogenicidade desses fungos.

Analisando as notas dos sintomas atribuídos aos tratamentos não-inoculados e inoculados com *Fusarium oxysporum* (Figura 1), *F. solani* (Figura 2) e *F. oxysporum* e *F. solani* juntos (Figura 3), nota-se que aquelas atribuídas ao *F. oxysporum* foram 7% maiores que os não-inoculados, seguidos pelo *F. solani* com 19% e pelo *F. oxysporum* e *F. solani* juntos com 34%. Esses resultados são semelhantes com os de Poletto et al. (2006a), em que afirmam que essas duas espécies quando associadas são mais agressivas à erva-mate. Também, pode-se afirmar que, nas condições deste estudo, *F. solani* é mais agressivo que *F. oxysporum*.

Observa-se, nas Figuras 1, 2 e 3, que o tratamento C0A1 (não-inoculado) foi o único que não apresentou manifestação de qualquer sintoma (100% de mudas saudáveis), indicando que a adubação fornecida nesse tratamento é a melhor para o desenvolvimento das mudas. Observa-se, também, que esse tratamento proporcionou maior resistência às mudas em relação ao ataque de *Fusarium*, já que, na soma total dos sintomas foi o que recebeu as menores notas entre os tratamentos inoculados. Para Marschner (1995), essa resistência pode ser aumentada por modificações na anatomia das células da epiderme e/ou nas propriedades fisiológicas e bioquímicas, como produção de substâncias inibidoras ou repelentes, proporcionada pelo suprimento adequado de nutrientes à planta e também pela alteração nas respostas das plantas aos ataques parasitas, aumentando as barreiras mecânicas (lignificação) e a síntese de compostos tóxicos.

Para Tedesco & Bissani (2004), o crescimento das plantas em solos ácidos, na maioria das vezes é prejudicado, pois o pH baixo afeta diversos equilíbrios, resultando em menor disponibilidade de alguns nutrientes e na toxicidade de outros, além de interferir na atividade dos microrganismos do solo. Neste caso, a calagem do solo (Figura 1, 2 e 3) proporcionou efeito negativo para o desenvolvimento das plantas. O pH do solo acima do exigido pela espécie, proporcionou o aparecimento de sintomas severos, induzidos por um possível desequilíbrio fisiológico. Além disso, a planta estressada, por esse motivo, mostrou-se mais

propensa ao ataque de patógenos como também observado por Marschner (1995) e Zambolin et al. (2001).

A deficiência de nutrientes no solo pode causar distúrbios fisiológicos nas plantas. Segundo Camargo & Sá (2004), sintomas visuais de deficiência de nitrogênio ocorrem facilmente em plantas não-leguminosas e podem ser observados na forma de amarelecimento ou clorose das folhas e menor desenvolvimento de plantas. Já o excesso de N causa crescimento com fraca estrutura de sustentação, diminuição no rendimento, pela pequena translocação de carboidratos para as sementes ou retardamento da frutificação.

Para Anghinoni & Bissani (2004), quando há uma disponibilidade muito baixa de fósforo no solo, as plantas apresentam sintomas visuais de deficiência como: crescimento reduzido, má fecundação, maturação tardia dos frutos, falhas na granação em cereais, folhas de cor verde-escuras e, muitas vezes, arroxeadas, outras, porém, apresentam sintomas de amarelecimento ou secamento e morte, partindo das pontas.

A deficiência de potássio não provoca, de imediato, sintomas visíveis. No início da deficiência, ocorre uma redução na taxa de crescimento das plantas e, mais tarde, aparecem as cloroses e necroses. Esses sintomas geralmente começam nas folhas mais velhas, pelo fato destas suprirem as folhas mais novas com K, quando ocorre a deficiência. Na maioria das plantas, a clorose e a necrose começam nas margens e nas pontas das folhas, entretanto, em algumas espécies, aparecem pontos necróticos irregulares distribuídos na folha da planta (MEURER & INDA Jr, 2004).

Como o cálcio é um elemento imóvel nas plantas, sua deficiência é observada mais facilmente nas partes novas do vegetal cujo desenvolvimento é prejudicado ou cessa por completo. O crescimento das raízes também é afetado, por isso, elas necessitam do elemento no próprio ambiente de absorção de nutrientes, havendo crescimento reduzido em solos deficientes. A deficiência de magnésio nas plantas é observada na forma de amarelecimento das folhas. Como é um elemento móvel na planta, as folhas velhas apresentam sintomas mais pronunciados e, em algumas plantas, sobretudo as de folhas largas, os sintomas aparecem entre as nervuras das folhas (BISSANI & ANGHINONI, 2004).

Barroso et al. (2005) estudaram as exigências nutricionais da teca (*Tectona grandis* L.f.) pela técnica do nutriente faltante. Eles observaram que, no tratamento com omissão de nitrogênio, houve redução drástica do crescimento, clorose generalizada, paralisação de emissão de raízes novas e apodrecimento das raízes secundárias. A ausência de fósforo causou encarquilhamento nas extremidades das folhas mais velhas e clorose leve. Nas mudas submetidas à ausência de potássio, foram observados redução do crescimento, clorose

internerval, encarquilhamento e pontos necrosados nas folhas mais velhas e redução da emissão de raízes novas. Na ausência de cálcio, observaram redução drástica do crescimento, clorose internerval, encarquilhamento e necrose das folhas, morte da gema apical, paralisação de emissão de raízes novas e apodrecimento das raízes secundárias. As plantas sob ausência de magnésio mostraram clorose internerval.

Para mudas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), Sereda et al. (2007), observaram clorose generalizada e crescimento reduzido na ausência de N. A carência de fósforo proporcionou uma menor expansão do limbo foliar e coloração verde escura, em consequência do provável acúmulo da antocianina. Na carência de K, as mudas apresentaram necrose nas pontas e bordas das folhas mais velhas.

Embora no presente trabalho, o solo original possuísse um conteúdo muito baixo de nutrientes (Tabela 4), a ausência de adubação (tratamento C0A0) não proporcionou manifestação de sintomas severos nas mudas, porém, apresentaram crescimento reduzido (Figura 1, 2 e 3). A soma total dos sintomas, para este tratamento, ficou com notas em torno de 2 ou menores. Isso pode ser atribuído a uma característica de adaptação da erva-mate que cresce, naturalmente, em solos ácidos, com altos teores de alumínio e baixa disponibilidade de nutrientes (PANDOLFO, 2003).

O excesso de nutrientes minerais no solo pode causar efeito tóxico às plantas. Ceconi et al. (2007), testando diferentes doses de fósforo na produção de mudas de erva-mate, observaram o aparecimento de manchas cloróticas e necróticas nas folhas das mudas em doses acima de 540 mg P kg^{-1} de solo, bem acima da dose máxima aplicada neste estudo (30 mg P kg^{-1} de solo). Sintomas de clorose foliar também foram observados por Missio & Nicoloso (2005) em plantas de grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride) submetidas a dose de $180 \text{ mg de P kg}^{-1}$ de solo. Os mesmos autores, citando Olsen (1997), afirmam que os sintomas de clorose aparecem nas folhas por uma indisponibilização do Fe, causada por maiores concentrações de P e, com isso, prejudicando a síntese de alguns complexos clorofila-proteína no cloroplasto. Em função dos resultados expostos pelos autores acima, pode-se afirmar que, no presente estudo, as doses de P aplicadas não foram suficientes para causar efeito tóxico às mudas.

4.1.3 Efeito dos tratamentos nos parâmetros de crescimento das mudas

Segundo Carneiro (1995), as variáveis morfológicas: altura, diâmetro do colo, biomassa seca aérea (BMA), biomassa seca radicular (BMR) e biomassa total (BMT) e suas relações são as medidas mais utilizadas para determinar padrões de qualidade de mudas.

Na Tabela 5, são apresentados os valores de significância obtidos na análise da variância para os parâmetros de crescimento das mudas como, número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa radicular, aérea e total e relação biomassa aérea/radicular. Observa-se que houve significância na análise dos fatores F, C e A isolados e para as interações entre F x C e C x A, para a maioria das variáveis, porém, não na interação entre F x A e nem entre F x C x A.

O coeficiente de variação (CV%), para algumas variáveis (Tabela 5), encontra-se acima do padrão ideal de precisão para este tipo de experimento, porém, pode-se afirmar que para a erva-mate, esses valores são típicos, devido ao padrão fisiológico de crescimento da cultura, também observados em outros estudos por Stork et al. (2002).

Tabela 5 – Níveis de significância na análise da variância para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os fatores F, C e A e interação entre estes.

CV	Variáveis / P < F						
	N. folhas	Altura	Diâmetro	BMA	BMR	BMT	BMA/BMR
Fusarium (F)	0,01419*	0,09329ns	0,65836ns	0,01572*	0,00004*	0,00158*	0,00045*
Calagem (C)	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*
Adubação (A)	0,34712ns	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00197*
F*C	0,39960ns	0,00010*	0,00052*	0,01371*	0,00001*	0,00179*	0,00091*
F*A	0,65448ns	0,00034*	0,51378ns	0,75978ns	0,84159ns	0,81320ns	0,21436ns
C*A	0,00011*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00026*
F*C*A	0,31374ns	0,11094ns	0,26986ns	0,35660ns	0,15291ns	0,31823ns	0,00001*
CV (%)	9,8	20,6	15,4	28,8	27,2	27,2	17,0

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Na Figura 4, encontram-se os gráficos dos valores obtidos nos parâmetros de crescimento para o fator F (inoculação de *Fusarium* spp.) e a comparação de médias pelo teste de Tukey. Nota-se que para a variável número de folhas (Figura 4 A) não houve diferença significativa entre os níveis FO (*F. oxysporum*), FS (*F. solani*) e SF (sem *Fusarium*), com

média de 24 folhas. O nível FOS (*F. oxysporum* + *F. solani*) não diferiu do SF, mas diferiu do FO e FS. A altura e o diâmetro (Figura 4 A e B) não tiveram diferenças significativas, permanecendo com médias de 30,9 cm e 6,0 mm, respectivamente.

As variáveis BMR, BMA e BMT (Figura 4 D, E e F) foram fortemente influenciadas pela presença de *Fusarium*. Os níveis FO, FS e FOS foram iguais estatisticamente, diferindo da testemunha (SF) que permaneceu com os maiores valores. Em média, os valores de BMT dos níveis inoculados foram 14% menores que os não-inoculados. Nota-se que a inoculação de *Fusarium* spp. proporcionou significativa diminuição do sistema radicular, provavelmente, por impedimento no crescimento ou por necrose, o que provocou a diminuição da BMA (Figura 4 E), pela menor área de absorção de nutrientes e/ou por obstrução dos vasos condutores de seiva. A relação entre BMA/BMR foi menor para a testemunha (SF) e maior para os demais (inoculados) (Figura 4 G), justificado pelo severo ataque do *Fusarium* spp. às raízes.

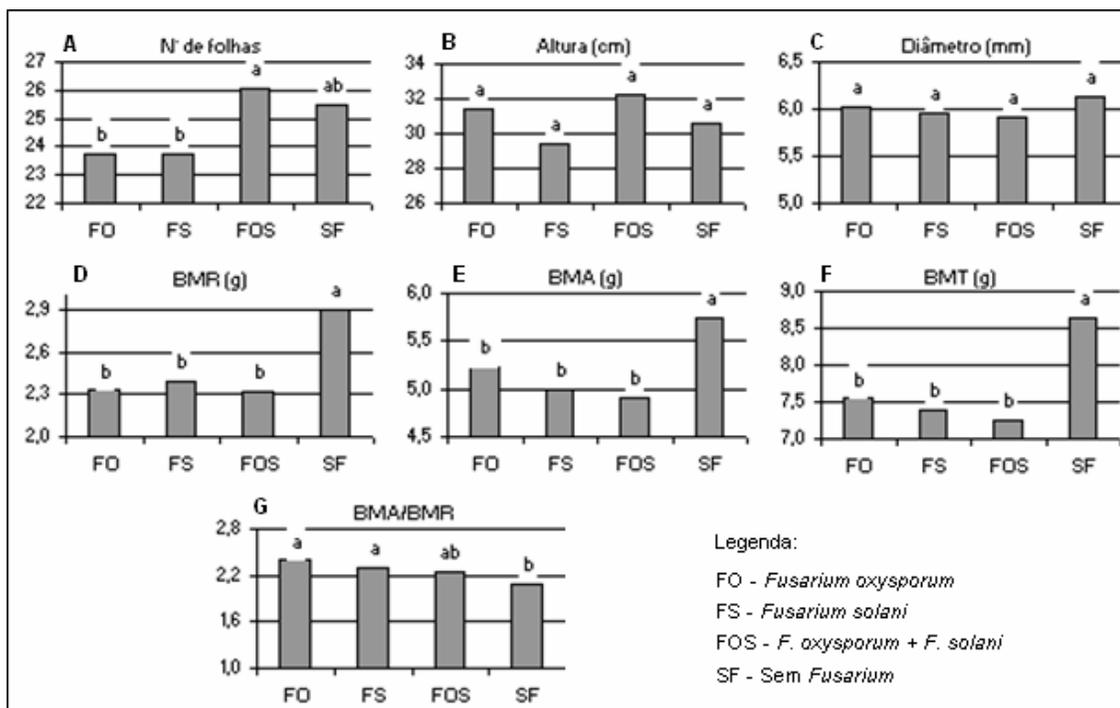


Figura 4 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa radicular (BMR), (E) aérea (BMA) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função da inoculação ou não de *Fusarium* spp. (Fator F). Colunas não seguidas de mesma letra diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A redução do sistema radicular de mudas, segundo Carneiro (1995), pode ocorrer por diversos motivos, como: composição física e química do substrato, umidade, sombreamento e, sobretudo por ataque de patógenos radiculares. A reduzida proporção de raízes, em relação à parte aérea, compromete de várias formas a qualidade das mudas, interferindo diretamente na sobrevivência e desenvolvimento a campo. Portanto, a relação BMA/BMR é de grande valia para determinar a qualidade de mudas. A significativa redução na produção de biomassa aérea e radicular, nos níveis inoculados com *Fusarium* spp., mostra o potencial desse patógeno em causar danos à erva-mate.

Na Figura 5, observa-se a representação gráfica dos valores dos parâmetros de crescimento das mudas de erva-mate submetidas a diferentes níveis de calagem (Fator C). Em todas as variáveis observadas, verificou-se significativa diminuição dos valores com o aumento da calagem. Na média entre variáveis, houve uma diminuição dos valores do nível C0 para C1 de 17% e do nível C0 para C2 de 74%. A maior redução nos valores foi observada para a variável BMR (78%). A relação entre BMA/BMR (Figura 5 G) aumentou 19% do nível C0 para C2. Esses valores mostram que a calagem do solo foi prejudicial ao desenvolvimento da erva-mate, sobretudo ao sistema radicular.

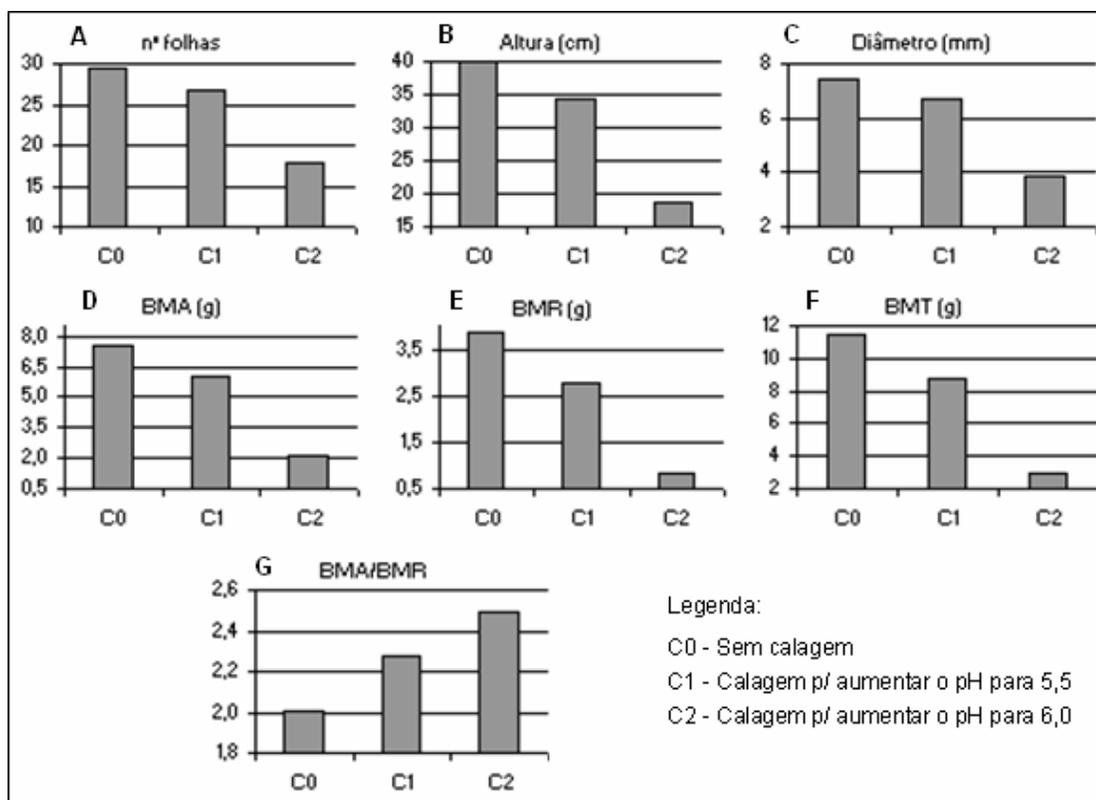


Figura 5 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função dos níveis de calagem (Fator C).

Reissmann & Carneiro (2004), testando cinco níveis de calagem do solo, durante 8 anos seguidos, observaram que as plantas de erva-mate não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos, nas variáveis altura, diâmetro da copa e produção de biomassa, ficando o tratamento testemunha sem calagem (11,6% de saturação de bases), com os maiores valores.

As equações referentes à análise de regressão, para os valores dos parâmetros de crescimento das mudas de erva-mate submetidas a diferentes níveis de calagem (Fator C), são apresentadas na Tabela 6. Para todas as variáveis, as equações que melhor se ajustaram aos dados foram lineares decrescentes ou quadráticas, exceto para a relação BMA/BMR que foi somente linear. Os valores dos parâmetros de precisão Prob.>F e r^2 indicam que as equações se ajustaram com alto grau de significância aos dados obtidos.

Tabela 6 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos nas variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função dos níveis de calagem (Fator C).

Variáveis	Equações polinomiais	Prob.>F	r^2
N. folhas	$Y = 7,929378 - 0,5913627x$	0,00001*	0,89
	$Y = -0,793297 + 2,9932984x - 0,35846611x^2$	0,00001*	0,99
Altura	$Y = 84,017604 - 10,6240625x$	0,00001*	0,93
	$Y = -38,584374 + 39,7603121x - 5,03843746x^2$	0,00001*	0,99
Diâmetro	$Y = 14,936771 - 1,7895625x$	0,00001*	0,89
	$Y = -11,299126 + 8,9923129x - 1,07818754x^2$	0,00001*	0,99
BMA	$Y = 18,890104 - 2,7354375x$	0,00001*	0,94
	$Y = -10,408751 + 9,3051878x - 1,20406253x^2$	0,00001*	0,99
BMR	$Y = 10,012792 - 1,5056250x$	0,00001*	0,97
	$Y = -0,365374 + 2,7593747x - 0,42649998x^2$	0,00006*	0,99
BMT	$Y = 28,867687 - 4,2329375x$	0,00001*	0,95
	$Y = -10,611621 + 11,9914360x - 1,62243735x^2$	0,00001*	0,99
BMA/BMR	$Y = 1,042917 + 0,2431250x$	0,00001*	0,99
	$Y = 0,410251 + 0,5031246x - 0,02599996x^2$	0,62658ns	0,99

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro.

Na Figura 6, observa-se a representação gráfica dos valores dos parâmetros de crescimento das mudas de erva-mate submetidas a diferentes níveis de adubação NPK (Fator A). Para a variável número de folhas (Figura 6 A), observa-se uma tendência de aumento do nível A0 para A2 e decréscimo partindo deste, porém, a análise de regressão, para esses dados, não foi significativa para as equações testadas (Tabela 7).

Já para as variáveis altura, diâmetro, BMA, BMR e BMT (Figura 6 B, C, D, E e F), as equações que melhor se ajustaram aos dados obtidos em função dos níveis de adubação foram lineares positivas (Tabela 7), os valores dessas variáveis aumentaram, do nível A0 para A3, em média 24%, sendo que a maior diferença foi observada na BMR com 33%.

Lourenço et al. (1998) estudaram a aplicação de diferentes doses de NPK (20-5-20), na produtividade um erval, no município de Áurea, RS. Os tratamentos consistiram na aplicação de 0, 170, 340 e 510 g/planta. Nas medições efetuadas após dois anos de aplicação, os autores observaram resposta quadrática para as variáveis altura e biomassa, sendo os maiores valores obtidos nas doses 170 e 340 g/planta, respectivamente.

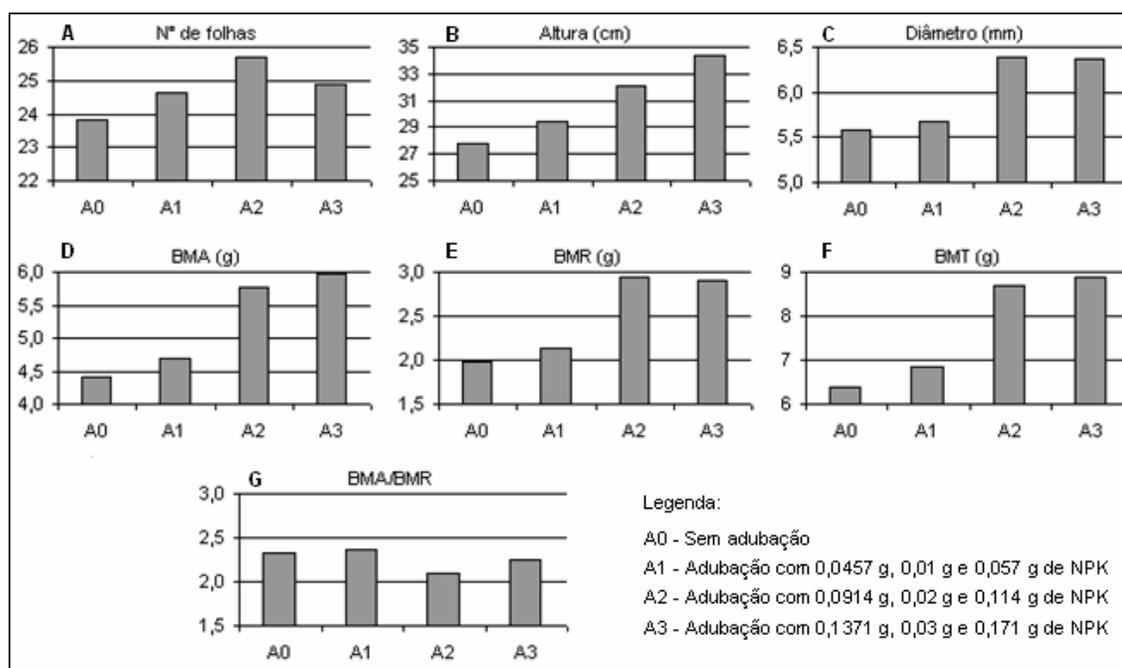


Figura 6 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função dos níveis de adubação NPK (Fator A).

A relação BMA/BMR (Figura 6 G) apresentou resposta linear decrescente (Tabela 7), isso provavelmente, pela grande quantidade de nutrientes disponíveis às plantas, não necessitando, então, expandir o sistema radicular em busca destes. Martins et al. (2004) observaram que, o diâmetro e a densidade de raízes finas de *Eucalyptus grandis*, diminuiu à medida que aumentaram as doses de adubação. Reis et al. (1985) relatam que, quanto mais produtivo for o sítio, menos desenvolvido será o sistema de raízes finas de absorção. Ao

contrário, quando o sítio é pouco produtivo, as plantas, para atenderem às suas demandas nutricionais, precisam de um sistema radicular de absorção mais efetivo (maior área superficial), capaz de absorver, em quantidade e qualidade, os nutrientes do solo.

Tabela 7 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos nas variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função da adubação NPK (Fator A).

Variáveis	Equações polinomiais	Prob.>F	r ²
N. folhas	$Y = 4,893585 + 0,0315919x$	0,26251ns	0,38
	$Y = 4,694292 + 0,2308851x - 0,03985864x^2$	0,20446ns	0,86
Altura	$Y = 25,249167 + 2,2592500x$	0,00001*	0,99
	$Y = 26,204375 + 1,3040416x + 0,19104169x^2$	0,64710ns	0,99
Diâmetro	$Y = 5,223667 + 0,3061166x$	0,00001*	0,81
	$Y = 5,129708 + 0,4000750x - 0,01879166x^2$	0,75093ns	0,82
BMA	$Y = 3,786833 + 0,5704334x$	0,00001*	0,93
	$Y = 3,694750 + 0,6625167x - 0,01841667x^2$	0,84352ns	0,93
BMR	$Y = 1,599833 + 0,3539333x$	0,00001*	0,84
	$Y = 1,333167 + 0,6206000x - 0,05333334x^2$	0,22100ns	0,85
BMT	$Y = 5,375834 + 0,9308665x$	0,00001*	0,90
	$Y = 5,044167 + 1,2625332x - 0,06633333x^2$	0,62998ns	0,90
BMA/BMR	$Y = 2,381167 - 0,0490500x$	0,02601*	0,31
	$Y = 2,522208 - 0,1900917x + 0,02820834x^2$	0,25395ns	0,39

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro.

Na Figura 7, estão representados os valores obtidos nos parâmetros de crescimento das mudas de erva-mate submetidas à combinação dos fatores F (inoculação de *Fusarium* spp.) e C (níveis de calagem). Para a variável número de folhas (Figura 7 A), não houve diferença significativa entre os níveis dos fatores.

Se observarmos separadamente as variáveis número de folhas e altura (Figura 7 A e B) pode-se inferir que a ausência de calagem (C0) proporcionou maior resistência às mudas ao ataque de *Fusarium* spp., igualando-se a testemunha (SF); a severidade de *Fusarium* spp. foi diminuída em pH mais baixo; ou estas variáveis não refletem os efeitos causados pelo ataque de *Fusarium* spp. Para as outras variáveis houve, na maioria das vezes, superioridade da testemunha (SF) em relação aos níveis com presença de *Fusarium*.

No nível de calagem C1 (Figura 7), observou-se superioridade nos valores obtidos para a testemunha (SF) em relação aos demais, mesmo que para algumas variáveis, a análise estatística estabeleceu igualdade entre os níveis. O *Fusarium solani* (nível FS) apresentou os

menores valores em todas as variáveis e, com isso, pode-se afirmar que esse patógeno é mais severo nesta calagem ou então, que as mudas tornaram-se mais suscetíveis, provavelmente, por alterações fisiológicas e bioquímicas.

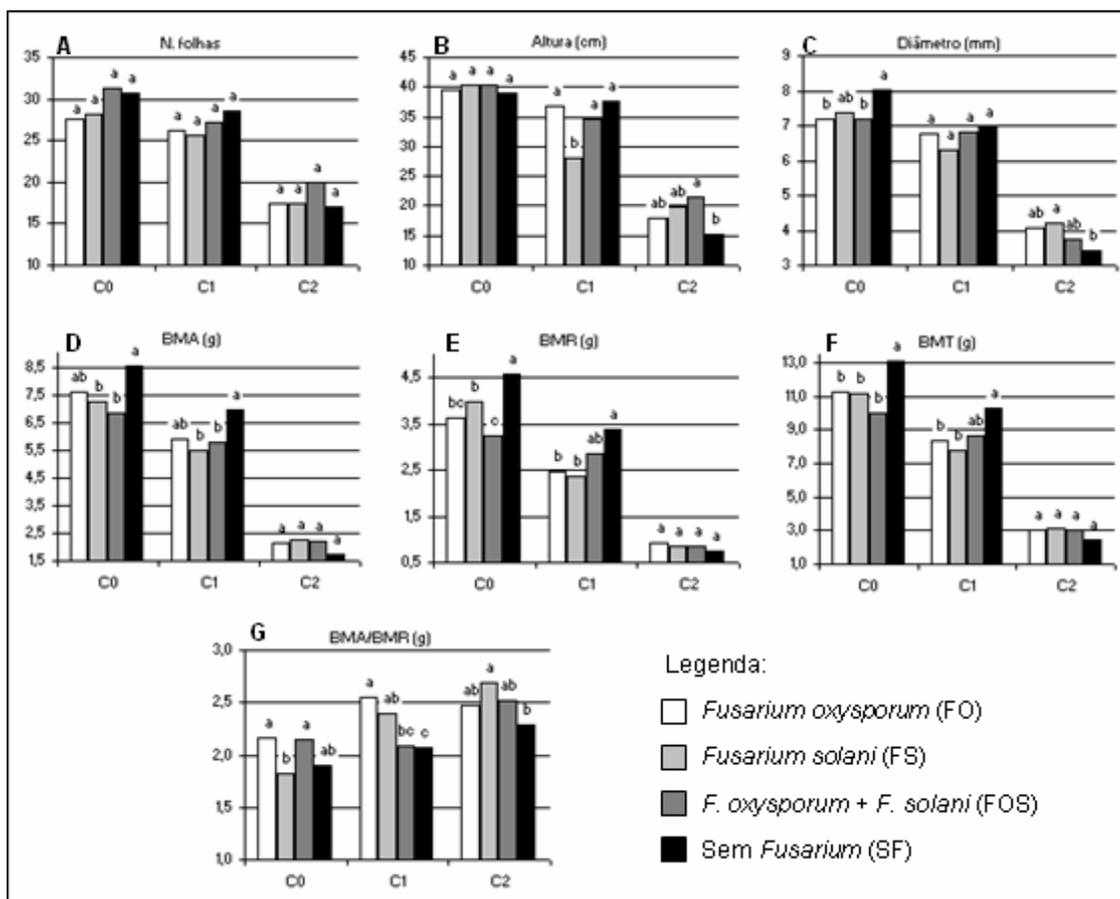


Figura 7 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), em função da combinação dos fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e C (níveis de calagem). Colunas não-seguidas de mesma letra diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Analisando a resposta dos níveis com e sem inoculação de *Fusarium*, em relação ao nível C2 de calagem (Figura 7), observa-se que a testemunha (SF) apresentou os menores valores em comparação aos níveis inoculados (FO, FS e FOS), embora a análise estatística não tenha estabelecido diferenças para algumas variáveis. Isso, provavelmente, pode ser atribuído à diminuição da área de absorção de raízes, causada pelo ataque de *Fusarium* spp., impedindo a absorção e ficando, então, menos expostas ao excesso de nutrientes.

Observando a relação BMA/BMR (Figura 7 G), os valores do nível sem *Fusarium* (SF) foram menores que os inoculados (FO, FS e FOS). Isso é ocasionado pelo ataque de *Fusarium* spp. ao sistema radicular das mudas, diminuindo o peso das raízes em relação à parte aérea.

Na Figura 8, são apresentados os valores dos parâmetros de crescimento obtidos nas mudas de erva-mate submetidas à combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (adubação NPK).

Para as variáveis altura, diâmetro, BMA e BMT (Figura 8 B, C, D e F), obtiveram-se respostas lineares positivas (Tabela 8) para os níveis C0 e C1 de calagem e linear negativa para C2 em função das doses de adubação. Observando os parâmetros de precisão, nota-se que as equações se ajustaram perfeitamente aos dados obtidos, com exceção da variável altura que não foi significativa no maior nível de calagem (C2).

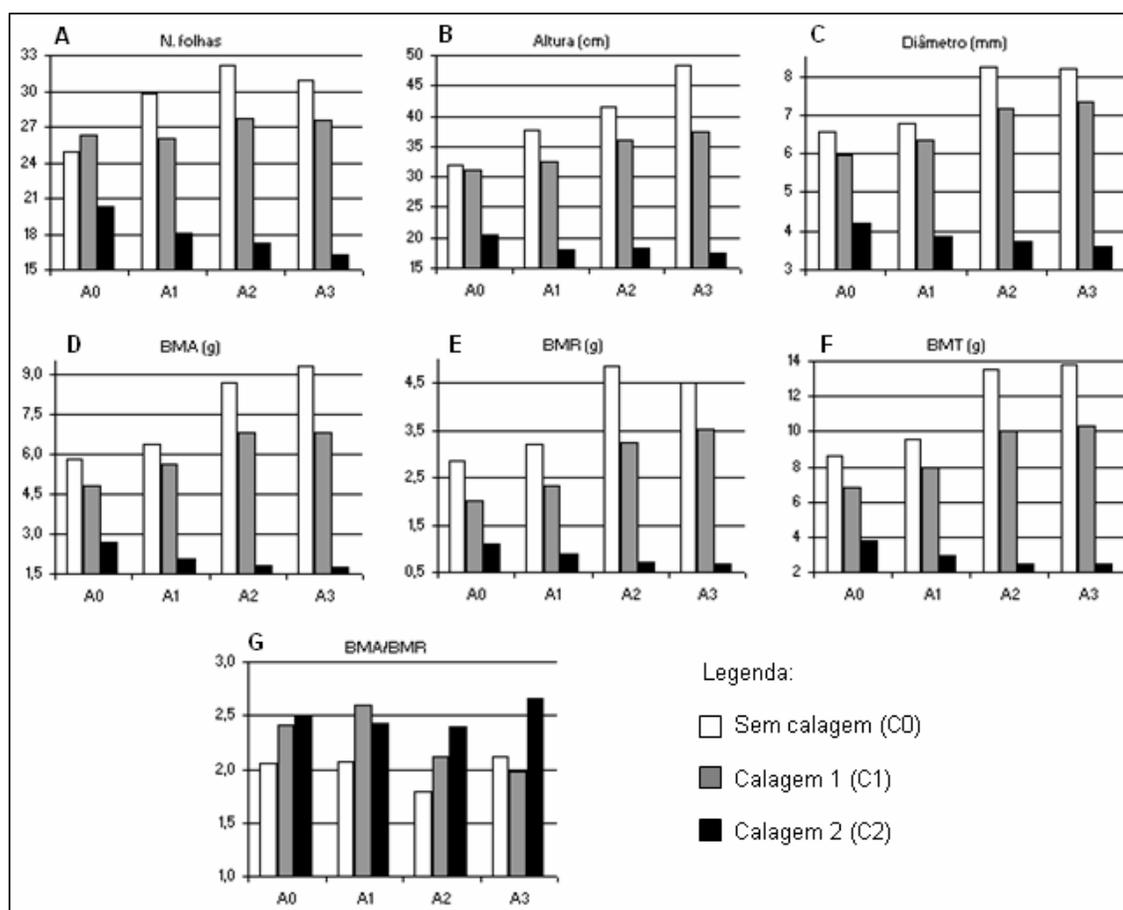


Figura 8 – Gráficos dos valores referentes às variáveis (A) número de folhas, (B) altura, (C) diâmetro do colo, (D) biomassa aérea (BMA), (E) radicular (BMR) e (F) total (BMT) e (G) relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK).

Para o número de folhas (Figura 8 A), obteve-se resposta quadrática para o nível C0, linear negativa para C1 (não-significativa) e linear negativa para C2 (Tabela 8), em função das doses de adubação. A BMR (Figura 8 E) teve efeito semelhante, apresentando resposta quadrática para o nível C0, linear positiva para C1 e linear negativa para C2 (Tabela 8). Para a relação BMA/BMR (Figura 8 G), os menores valores foram obtidos pra o nível C0 e os maiores para C2, na maioria das vezes, ficando o C1 com valores intermediários. As equações que melhor se ajustaram para essa variável foram linear negativa para C0 (não-significativa), linear negativa para C1 e linear positiva para C2.

Analisando conjuntamente as variáveis representadas na Figura 8 e na Tabela 8, observa-se que os maiores valores foram encontrados no nível sem calagem (C0), em todas as doses de adubação, e efeito contrário para o C2 que, quanto maior a adubação, menor foram os valores observados.

Tabela 8 - Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos nas variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR) em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK).

Variáveis	Fator (C)	Equações polinomiais para os níveis do Fator (A)	Prob.>F	r ²
N. folhas	C0	$Y = 4,218360 + 0,9270467x - 0,14553845x^2$	0,00821*	0,99
	C1	$Y = 5,087381 - 0,0496644x$	0,31088ns	0,58
	C2	$Y = 4,647322 - 0,1542433x$	0,00223*	0,97
Altura	C0	$Y = 26,510000 + 5,3327501x$	0,00001*	0,99
	C1	$Y = 28,550000 + 2,2825000x$	0,00072*	0,96
	C2	$Y = 20,687500 - 0,8375000x$	0,18587ns	0,69
Diâmetro	C0	$Y = 5,785750 + 0,6533500x$	0,00001*	0,81
	C1	$Y = 5,504500 + 0,4813000x$	0,00002*	0,95
	C2	$Y = 4,380750 - 0,2163000x$	0,01880*	0,96
BMA	C0	$Y = 4,311750 + 1,2941000x$	0,00001*	0,94
	C1	$Y = 4,184000 + 0,7326501x$	0,00003*	0,91
	C2	$Y = 2,864750 - 0,3154500x$	0,03438*	0,87
BMR	C0	$Y = 1,321875 + 1,5268751x - 0,17212503x^2$	0,02250*	0,77
	C1	$Y = 1,408750 + 0,5441000x$	0,00001*	0,95
	C2	$Y = 1,208250 - 0,1485500x$	0,02745*	0,97
BMT	C0	$Y = 6,494251 + 1,9603497x$	0,00001*	0,89
	C1	$Y = 5,592750 + 1,2767498x$	0,00001*	0,94
	C2	$Y = 4,040500 - 0,4445000x$	0,03287*	0,88
BMA/BMR	C0	$Y = 2,034500 - 0,0111000x$	0,76953ns	0,01
	C1	$Y = 2,716750 - 0,1763500x$	0,00006*	0,68
	C2	$Y = 2,392250 + 0,0403000x$	0,29415ns	0,19

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro.

Ceconi et al. (2007), estudando diferentes doses fósforo na produção de mudas de erva-mate em um Argissolo Vermelho Amarelo, observaram que a máxima eficiência técnica para as variáveis observadas ficou entre 362,5 e 466,25 mg P kg⁻¹ de solo. Resultados semelhantes foram encontrados por Ceconi et al. (2003) na produção de mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), Schumacher et al. (2004) na produção de mudas de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan), Vogel et al. (2001) em mudas de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) e Ceconi et al. (2006) em mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart.). Fernandes et al. (2000) testaram doses de 0, 150, 300 e 600 mg P kg⁻¹ de solo, classificado como Latossolo, para a produção de mudas de aroeirinha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), paineira (*Chorisia speciosa* St. Hill.) e jambolão (*Syzygium jambolanum* Lam.) e encontraram respostas lineares positivas e quadráticas nas variáveis medidas. Comparando os resultados deste trabalho, com os dos autores acima, pode-se afirmar que a dose de máxima eficiência técnica (DMET) em fósforo, neste experimento, seria bem acima da dose máxima testada (30 mg P kg⁻¹ de solo).

Nicoloso et al. (2001), estudando a exigência nutricional de mudas de grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride) em um Argissolo Vermelho Distrófico arênico, concluíram que a máxima eficiência técnica estimada da adubação fosfatada e potássica, na produção de massa seca da planta, é acima de 80 mg kg⁻¹ de solo e, para a adubação nitrogenada, é de 70 mg kg⁻¹ de solo e que, o efeito benéfico da adição de nitrogênio, está condicionado à aplicação conjunta de potássio.

Pandolfo et al. (2003) observaram a produção de massa verde de erva-mate a campo, em um Latossolo Vermelho Aluminoférrico, durante cinco anos, sob adubação com doses de 0, 25, 50, 75, 100, 125 g de N por planta por ano e verificaram o efeito quadrático na produção acumulada nos 5 anos, com máxima eficiência técnica de 80,5 g de N por planta por ano, produzindo 36,5 kg de massa verde por planta.

Efeitos positivos na aplicação de N também têm sido observados em outras espécies florestais. Marques et al. (2006) observaram efeito significativo na aplicação de N na produção de mudas de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex Benth., em um Argissolo Vermelho Amarelo. Eles recomendam que a dose de 180 mg N kg⁻¹ de solo é a melhor para a produção de mudas da espécie, embora as características avaliadas não tenham estabelecido sua máxima eficiência técnica em uma única dose. Sousa et al. (2006) observaram que o P e o N são os elementos minerais que mais influenciam o desenvolvimento de mudas de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Sandwith).

Portanto, analisando os trabalhos encontrados na literatura sobre adubação com NPK em espécies florestais, juntamente com os resultados encontrados neste estudo, pode-se afirmar que as doses desses nutrientes aplicadas à erva-mate, neste experimento, não foram suficientes para ocasionar sintomas de toxidez, exceto, quando a adubação foi aplicada conjuntamente com a calagem do solo.

Embora o efeito da inoculação de *Fusarium* spp. tenha proporcionado a manifestação de sintomas severos, o efeito sobre os parâmetros de crescimento não foi tão pronunciado. Neste caso, os 13 meses de condução deste experimento podem ter sido pouco tempo para a manifestação mais severa do patógeno em função dos tratamentos aplicados. Os trabalhos publicados nos principais periódicos, nacionais e internacionais, envolvendo patógenos radiculares ou da parte aérea, na maioria, não mencionam valores de variáveis como altura e produção de biomassa e, sim, notas quantificando a incidência e a severidade dos sintomas ocasionados pelos patógenos, dificultando a comparação dos resultados obtidos no presente trabalho com outros estudos sobre o mesmo assunto.

4.1.4 Efeito dos tratamentos na população fúngica do solo

A população fúngica do solo foi composta pelos gêneros *Fusarium*, *Verticillium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Nigrospora*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia* e *Dichobotrys*. A população de *Fusarium* e *Verticillium* foi analisada estatisticamente por esses fungos apresentarem-se em maior número e em todos os tratamentos. As demais foram somadas compondo a variável “outros”, a variável “N. de gêneros” foi composta pela contagem do número de gêneros presentes em cada tratamento e a variável “total” foi a soma do número de UFCs de todos os fungos presentes.

Com exceção do *Fusarium* e *Rhizoctonia*, causadores de podridão-de-raízes, os demais fungos presentes no solo não são considerados patógenos de podridões radiculares da erva-mate, porém, podem associar-se à planta de maneira oportunista, como organismos secundários na decomposição dos tecidos mortos (BARNETT & HUNTER, 1999; AUER & GRIGOLETTI Jr., 2002; POLETTO et al., 2007).

Na Tabela 9, são apresentados os valores de significância obtidos na análise da variância para a contagem da população fúngica do solo. Observa-se que houve efeito significativo para todas as variáveis no fator F e na interação entre F*C. A população de

Fusarium e o n. de gêneros fúngicos foram influenciados significativamente somente pelo fator F e na interação entre F*C. As populações de *Verticillium* e total foram influenciadas significativamente, por todos os fatores e suas interações.

Tabela 9 – Níveis de significância para a população dos fungos *Fusarium*, *Verticillium*, outros fungos, número de gêneros e população total de gêneros presentes no solo em função dos fatores F, C e A e sua interação.

CV	Variáveis / P < F				
	<i>Fusarium</i>	<i>Verticillium</i>	Outros	N. de gêneros	Total
Fusarium (F)	0,00001*	0,00001*	0,00339*	0,01143*	0,00001*
Calagem (C)	0,07167ns	0,00001*	0,02534*	0,29082ns	0,00001*
Adubação NPK (A)	0,35011ns	0,00001*	0,00170*	0,32396ns	0,00001*
F*C	0,00210*	0,00002*	0,00006*	0,03923*	0,00001*
F*A	0,16291ns	0,00013*	0,00020*	0,17598ns	0,00044*
C*A	0,06786ns	0,00021*	0,01217*	0,21328ns	0,00001*
F*C*A	0,07786ns	0,00020*	0,34913ns	0,62927ns	0,00001*
CV (%)	20,0	9,7	18,0	8,9	6,2

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro.

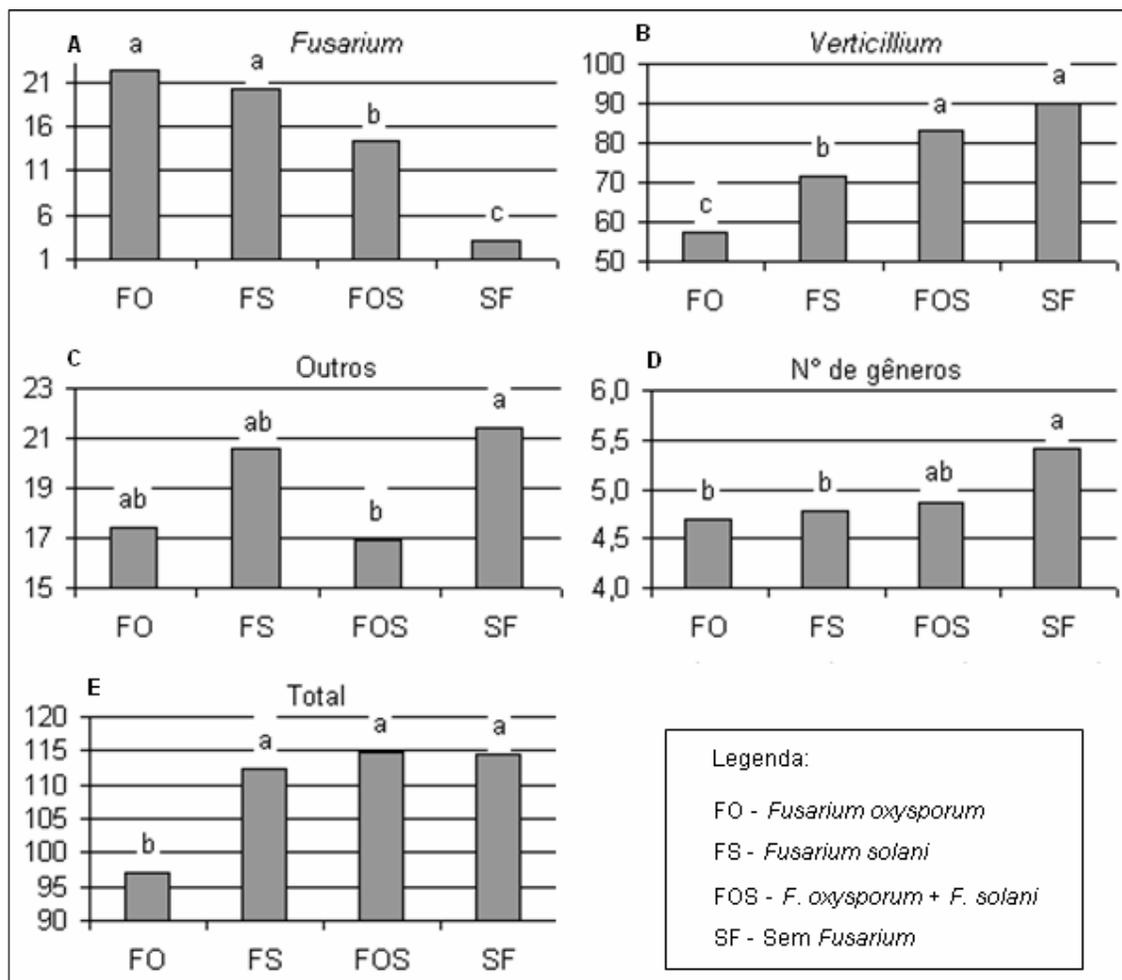
Na Figura 9, observam-se os gráficos do número de UFCs mg^{-1} de solo da população fúngica presente no solo em função do fator F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.), juntamente com o teste de Tukey.

Observa-se na Figura 9 A, que a população de *Fusarium* foi maior nos níveis FO e FS (21 UFCs, em média), porém, quando *F. oxysporum* e *F. solani* foram inoculados juntos (FOS) houve uma significativa redução (33%) no número de UFCs, mesmo que a severidade de alguns sintomas nas mudas de erva-mate foi maior neste nível (Figura 1, 2 e 3). Uma hipótese, para isso, é que as duas espécies podem competir entre si por espaço, causando uma menor produção de esporos. No nível SF, foram encontradas cerca de 3 UFCs mg^{-1} de solo, uma quantidade significativamente menor que o encontrado nos demais. Esse número se refere, provavelmente, à população natural de *Fusarium* presente no solo utilizado. O menor número de UFCs presente no nível FS em relação ao FO, embora não-significativo, pode ser atribuído ao menor número de esporos inoculados no solo nesse nível durante a instalação do experimento ($4,30 \times 10^7$ esporos mL^{-1} para *F. oxysporum* e $2,99 \times 10^7$ esporos mL^{-1} para *F. solani*).

Diferentemente de *Fusarium*, a população de *Verticillium* (Figura 9 B) foi maior nos níveis SF e FOS (90 e 83 UFCs, respectivamente) e menor no FO (57 UFCs). Parece haver

uma relação inversa entre as duas populações, quanto menor a população de *Fusarium* maior a população de *Verticillium*. Nesse caso, pode ter ocorrido uma disputa por espaço e nutrientes do solo por esses dois fungos, uma população ocupando o espaço da outra, ou então, uma prejudicando o desenvolvimento da outra, suprimindo-a. Segundo Wollum (1998), no solo existe uma grande competição entre organismos por nutrientes, espaço e umidade.

A população dos demais fungos (Figura 9 C) foi maior nos níveis SF e FS e menor nos demais níveis. O N. de gêneros (Figura 9 D) foi significativamente maior no nível SF, em comparação com os demais. A população total de fungos foi significativamente igual entre os níveis FS, FOS e SF, com média de 114 UFCs mg⁻¹ de solo. Já o nível FO apresentou 97 UFCs mg⁻¹ de solo, número significativamente menor que os demais.



A calagem (Fator C) influenciou a população de *Verticillium* (Figura 10 B), respondendo de forma linear positiva (Tabela 10) ao aumento de pH do solo. Como a população de *Verticillium* é maior que as demais, acabou influenciando a população total (Figura 10 E) que apresentou o mesmo comportamento (Tabela 10) em relação ao aumento de pH.

Diferentemente do encontrado no presente estudo, Monterio et al. (2004) observaram em meio de cultura, que o crescimento e a esporulação de *Verticillium lecanii* não foram influenciados pelos diversos níveis de pH testados (5, 6, 7, 8 e 9), com exceção do pH 4 que reduziu seu crescimento.

A população de *Fusarium* (Figura 10 A) não foi influenciada significativamente pelo pH do solo, embora apresente uma tendência de resposta quadrática nos valores obtidos (Tabela 10). O número de UFCs nos níveis C0 e C2 foram semelhantes (16 e 15 UFCs mg⁻¹ de solo, respectivamente), porém, houve uma redução de aproximadamente 20% desses para o C1, podendo indicar que este nível de calagem, recomendado pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo (2004) para a erva-mate, exerce uma influencia positiva para a diminuição da população de *Fusarium*.

Efeito semelhante também foi observado na soma da população dos demais fungos (Figura 10 C), respondendo de forma quadrática (Tabela 10), obtendo os menores valores no nível C1. O número de gêneros (Figura 10 D) não foi influenciado, significativamente, pela calagem.

Segundo Brandão (1992), os fungos são predominantes em solos ácidos onde sofrem menor competição, pois as bactérias e actinomicetos são favorecidos por valores de pH na região alcalina e neutra. Os fungos podem ser encontrados em solos com pH de 3,0 a 9,0, porém, o valor ótimo varia de espécie para espécie.

A inibição do crescimento microbiano, em valores de pH considerados desfavoráveis, resulta não só do efeito direto da elevada concentração de H⁺ ou de OH⁻, mas também da influência direta do pH na penetração de compostos tóxicos, presentes no meio, nas células microbianas. A ação do pH sobre os microrganismos do solo depende de sua tolerância a esse fator (TSAI et al., 1992).

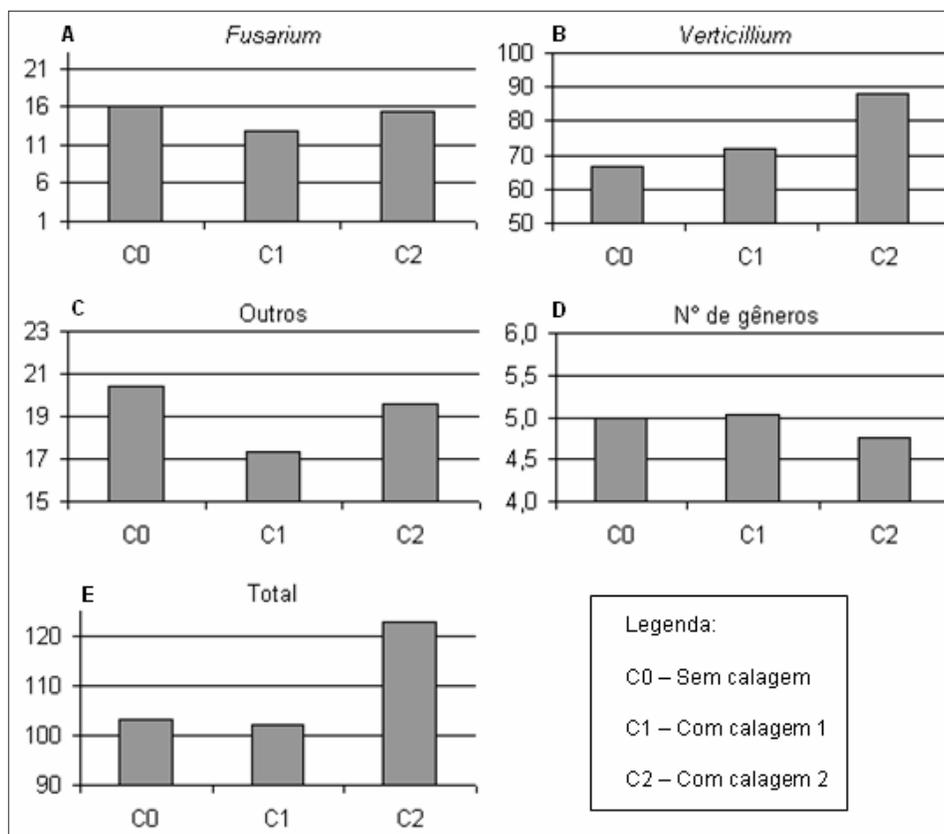


Figura 10 – Número de UFCs mg^{-1} de solo de *Fusarium* (A), *Verticillium* (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E), presentes no solo, em função dos níveis de calagem (Fator C).

Para Maffia & Mizubuti (2005), dentre as características químicas do solo, o pH e os nutrientes são os que mais afetam a atividade microbiana e os microrganismos respondem diferentemente a amplitudes do pH e fungos, em geral, crescem melhor em pH mais ácido. Nas situações em que o pH seja relativamente fácil de manipular, sua alteração, com vistas a desfavorecer os organismos fitopatogênicos ou favorecer agentes de biocontrole, pode ser empregada no manejo de doenças. Portanto, a menor população de *Fusarium* (20%) no nível C1 de calagem (5,4), neste estudo, em relação aos demais níveis, pode sinalizar que houve um desfavorecimento no desenvolvimento desse fungo.

A resposta de fungos à calagem do solo também foi observada por Rodrigues et al. (2002). Os autores estudaram a influência de doses de calcário na severidade da podridão-radicular do feijoeiro causada por *Rhizoctonia solani* e observaram resposta linear positiva no índice de doença (ID) em função da calagem. Houve uma variação no ID de 57% para 87% quando o pH foi aumentado de 4,9 para 5,8.

Tabela 10 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão para os valores obtidos na contagem do número de UFCs mg^{-1} de solo de *Fusarium*, *Verticillium*, outros fungos, número de gêneros e população total, presentes no solo em função do Fator C (níveis de calagem).

Variáveis	Equações polinomiais	Prob.>F	r ²
<i>Fusarium</i>	$Y = 4,123202 - 0,0973555x$	0,21469ns	0,29
	$Y = 10,580748 - 2,7511416x - 0,26537861x^2$	0,05048ns	0,99
<i>Verticillium</i>	$Y = 5,444572 + 0,6165854x$	0,00001*	0,96
	$Y = 10,898834 - 1,6248922x + 0,22414776x^2$	0,12553ns	0,99
Outros	$Y = 4,669468 - 0,0725388x$	0,63386ns	0,11
	$Y = 13,358064 - 3,6431946x + 0,35706558x^2$	0,01056*	0,99
N. de gêneros	$Y = 2,451867 - 0,0263995x$	0,21092ns	0,63
	$Y = 1,594648 + 0,3258821x - 0,03522816x^2$	0,66134ns	0,99
Total	$Y = 8,270644 + 0,4208200x$	0,00001*	0,69
	$Y = 20,083138 - 4,4336295x + 0,48544494x^2$	0,00017*	0,99

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro.

Os níveis de adubação NPK (Fator A) não influenciaram significativamente a população de *Fusarium* no solo (Figura 11 A), embora se observasse uma tendência de resposta quadrática (Tabela 11), sendo o maior valor observado no nível A1. A disponibilidade de nutrientes, assim como a capacidade de sua utilização pelos diferentes organismos do solo, tem correlação direta com o desenvolvimento de algumas doenças do sistema radicular. Patógenos que crescem numa faixa ampla de fonte de carbono e utilizam compostos nitrogenados orgânicos e inorgânicos, podem ter vantagens adaptativas em diferentes tipos de solo (PUNJA, 1985 *apud* MAFFIA & MIZUBUTI, 2005).

Nos solos ocorrem, com frequência, microrganismos com extraordinária *plasticidade nutricional* e que podem mudar seu conjunto de enzimas, para assim, sobreviverem nas mais diversas condições de disponibilidade de nutrientes (NEVES, 1992).

Portanto, a regulação da população de *Fusarium* no solo, provavelmente, não foi afetada pelas quantidades de nutrientes adicionadas ao solo do presente experimento e as variações na incidência e severidade da podridão-de-raízes, podem ser efeito da maior suscetibilidade da erva-mate ao patógeno em função dos níveis de adubação.

Diferentemente de *Fusarium*, a população de *Verticillium* (Figura 11 B) respondeu de forma quadrática à adubação (Tabela 11), houve um aumento de 48,5% do nível A0 para o A1 e diminuindo cerca de 5%, partindo desse. Com esses resultados, pode-se afirmar que o maior desenvolvimento deste gênero fúngico está condicionado a uma maior disponibilidade de nutrientes no solo. A maior população de *Verticillium* perante as demais acabou influenciando os resultados da soma total (Figura 11 E), que apresentou o mesmo comportamento.

A população dos demais fungos (Figura 11 C) apresentou resposta quadrática (Tabela 11) às doses de adubação, sendo o maior valor (21,5 UFCs mg^{-1} de solo) observado no nível A2. O número de gêneros (Figura 11 D) não apresentou respostas significativas.

O reduzido número de UFCs total, observado no nível sem adubação (A0), perante os demais (Figura 11 E), indica que a população fúngica do solo é fortemente comprometida pela baixa disponibilidade de nutrientes, existindo uma quantidade que, para mais ou para menos, é ideal para seu desenvolvimento, já que, nas maiores doses de NPK (A2 e A3), se observa uma tendência de diminuição do número de UFCs no solo.

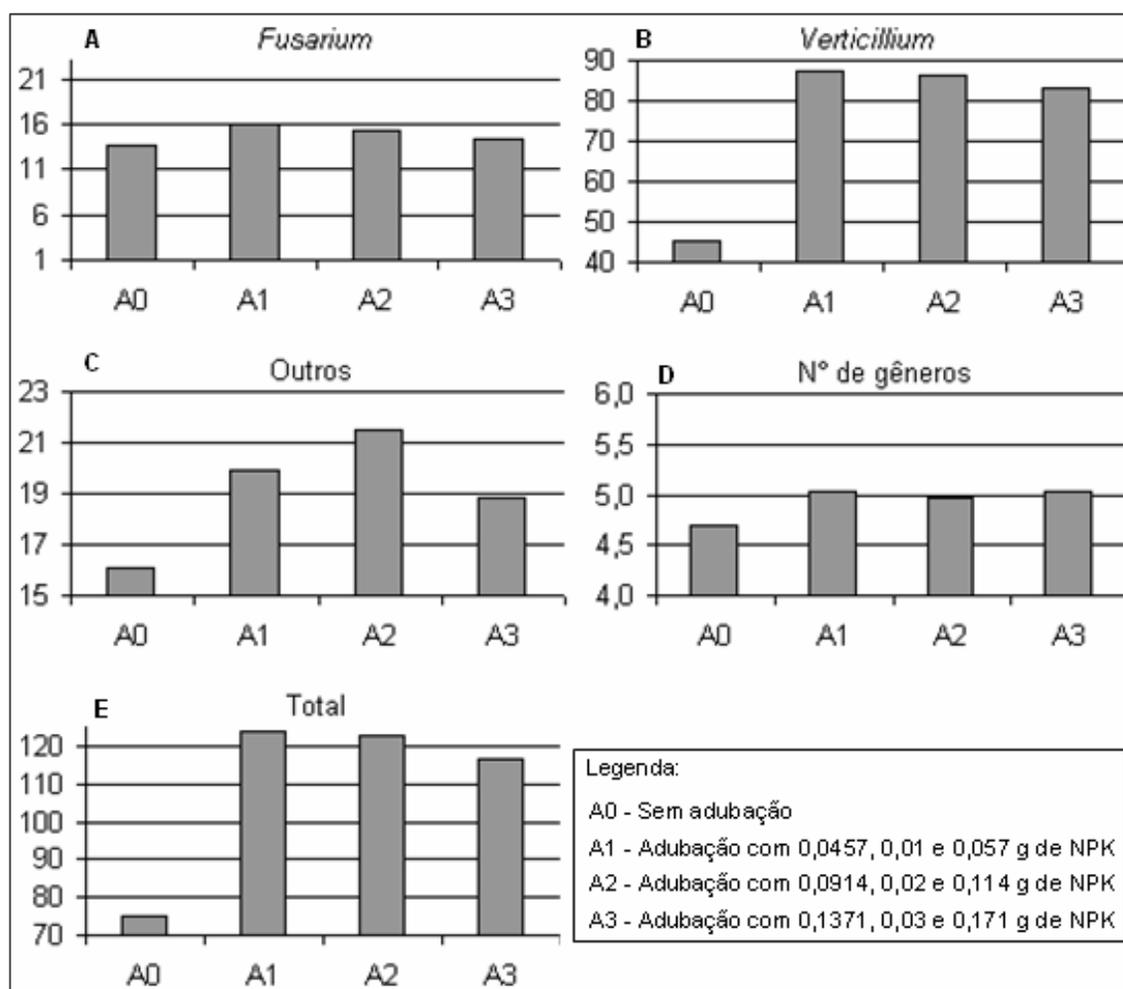


Figura 11 – Número de UFCs mg^{-1} de solo de *Fusarium* (A), *Verticillium* (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E) presentes no solo em função dos níveis de adubação NPK (Fator A).

Tabela 11 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos para o número de UFCs mg^{-1} de solo de *Fusarium*, *Verticillium*, outros fungos, número de gêneros e população total presentes no solo em função do fator A (níveis de adubação NPK).

Variáveis	Equações polinomiais	Prob.>F	r ²
<i>Fusarium</i>	$Y = 3,644988 - 0,0003425x$	0,95110ns	0,01
	$Y = 3,069506 + 0,0572057x - 0,00115096x^2$	0,07158ns	0,97
<i>Verticillium</i>	$Y = 6,737583 + 0,0715966x$	0,00001*	0,56
	$Y = 3,399146 + 0,4054403x - 0,00667687x^2$	0,00001*	0,93
Outros	$Y = 3,964751 + 0,0136810x$	0,01918*	0,33
	$Y = 2,875044 + 0,1226516x - 0,00217941x^2$	0,00148*	0,99
N. de gêneros	$Y = 2,264990 + 0,0021952x$	0,15343ns	0,58
	$Y = 2,181576 + 0,0105366x - 0,00016683x^2$	0,66366ns	0,84
Total	$Y = 8,782371 + 0,0636949x$	0,00001*	0,49
	$Y = 5,380934 + 0,4038386x - 0,00680287x^2$	0,00001*	0,94

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro.

Na Figura 12, são apresentados os gráficos da população fúngica do solo em função da combinação dos fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e A (níveis de adubação NPK), juntamente com o teste de Tukey para comparação de médias. Observando apenas os níveis sem calagem (C0), nota-se que a população de *Fusarium* (Figura 12 A) foi maior no nível inoculado com *F. oxysporum* (FO) diminuindo, sucessivamente, para os níveis com *F. solani* (FS), *F. oxysporum* e *F. solani* juntos (FOS) e testemunha (SF). Já nos níveis com calagem (C1 e C2), as populações de *Fusarium* nos níveis FO, FS e FOS foram estatisticamente semelhantes, diferindo, apenas, da testemunha (SF) com o menor valor.

Para a população de *Verticillium*, analisando apenas os níveis sem calagem (C0) (Figura 12 B), observa-se que foi maior nos níveis FOS e SF, diferindo estatisticamente dos demais. Quando foi aplicada a calagem (C1 e C2), os níveis FS, FOS e SF foram semelhantes e diferiram estatisticamente de FO, com o menor valor.

Para a população dos demais fungos (Figura 12 C), embora tenha apresentado diferenças estatísticas, não foi possível obter explicações lógicas sobre esse comportamento, o que também foi verificado para a população total (Figura 12 E). Porém, nota-se que no tratamento composto por FOS e C2, esta chegou a 141 UFCs mg^{-1} de solo, bem superior aos demais. O número de gêneros (Figura 12 D) foi estatisticamente semelhante em todos os níveis.

Embora ocorram diferenças estatísticas para a maioria das variáveis (Figura 12), não foi possível obter uma explicação lógica para o comportamento destas em função da interação dos fatores F e C (inoculação ou não de *Fusarium* x níveis de calagem).

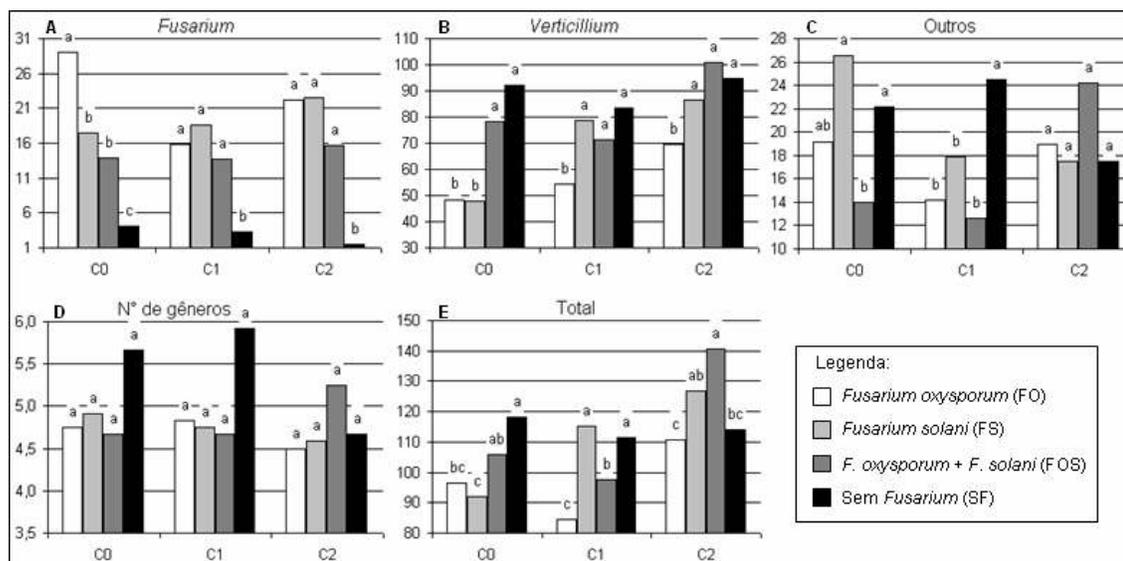


Figura 12 – Número de UFCs mg⁻¹ de solo de *Fusarium* (A), *Verticillium* (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E), presentes no solo, em função da combinação dos fatores F (inoculação de *Fusarium* spp.) e C (níveis de calagem).

A Figura 13 apresenta os gráficos da população fúngica do solo em função da interação entre os fatores F (inoculação ou não de *Fusarium*) e A (níveis de adubação), bem como o teste de Tukey para comparação de médias. Observa-se que não houve diferença significativa na população de *Fusarium* (Figura 13 A), porém, houve um comportamento semelhante entre os níveis do fator F relacionados à adubação. O nível FO apresentou, na maioria das vezes, o maior número de UFCs e o SF, os menores.

A população de *Verticillium* teve um comportamento semelhante entre os níveis. A testemunha (SF) apresentou, na maioria das vezes, o maior número de UFCs, seguido por FOS e FS com números intermediários e FO com os menores.

Na soma do número de UFCs dos demais fungos (Figura 13 C), observa-se uma resposta diferenciada em relação à adubação NPK, com alguns tratamentos mostrando diferença estatística e outros não e, embora ocorra essa diferenciação, não foi possível explicar esse comportamento. O número de gêneros (Figura 13 D) não apresentou diferenças significativas entre os níveis.

O número total de UFCs (Figura 13 E) não apresentou diferenças significativas entre os níveis do fator F na ausência de adubação (A0) e na dose máxima (A3), mas diferiram nos níveis intermediários (A1 e A2). Nota-se que a baixa disponibilidade de nutrientes (nível A0) limitou o desenvolvimento da população fúngica do solo, em contrapartida, o maior número de UFCs é encontrado no nível A1 de adubação (146 UFCs mg⁻¹ de solo).

Da mesma forma que na interação entre os fatores F e C, a interação F e A apresentou significância, porém, não foi possível obter conclusões claras sobre o comportamento apresentado pela população fúngica do solo.

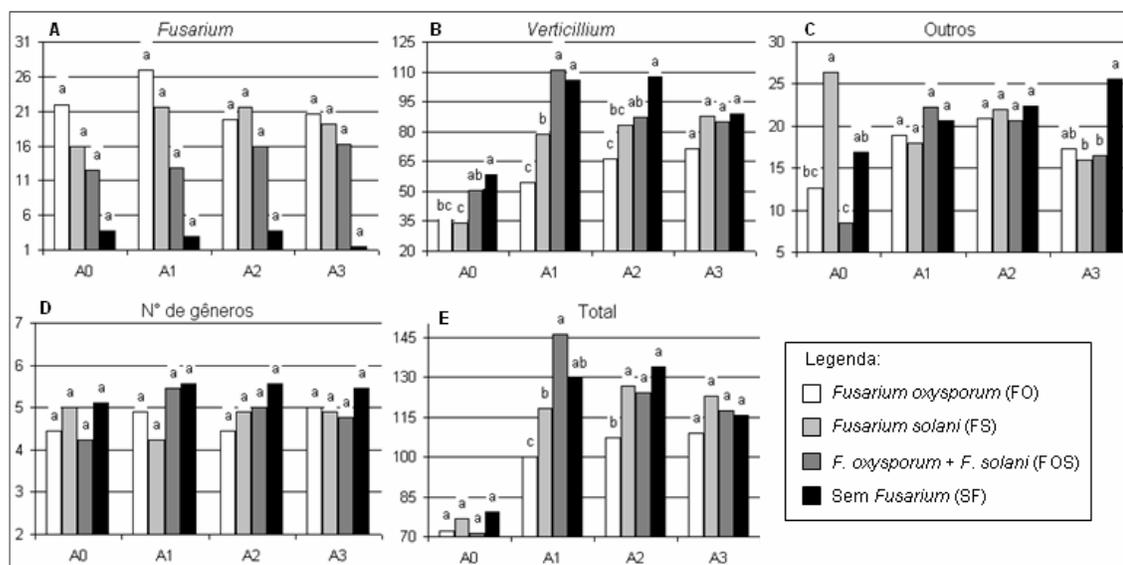


Figura 13 - Número de UFCs mg⁻¹ de solo de *Fusarium* (A), *Verticillium* (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E), presentes no solo, em função da combinação dos fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e A (níveis de adubação NPK).

Na Figura 14, são apresentados os gráficos da população fúngica do solo em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação) e, na Tabela 12, as equações polinomiais e parâmetros de precisão para cada variável que apresentaram significância. A interação entre esses dois fatores influenciou significativamente somente a população de *Verticillium* e por ter os maiores números de UFCs, influenciou, conseqüentemente, a população total de fungos.

A população de *Verticillium*, na ausência de calagem (C0) (Figura 14 B), respondeu de forma linear positiva aos níveis de adubação, porém, na presença de calagem (C1 e C2), a resposta foi quadrática, sendo os maiores valores observados nos níveis A1 e A2 de adubação.

A maior população de *Verticillium* perante as demais acabou influenciando o comportamento da população total de fungos do solo (Figura 14 E) que apresentou comportamento semelhante. As respostas obtidas para o número de UFCs total em função da calagem e adubação foram quadráticas (Tabela 12), sendo os maiores valores observados para o tratamento com maiores quantidades de nutrientes (A2 e A3).

A prática da calagem do solo proporciona maior disponibilidade de nutrientes à solução do solo e, associada à adição de nutrientes, neste experimento, fez com que o número de UFCs de *Verticillium* aumentasse significativamente. Portanto, o aumento da população deste fungo no solo é dependente de uma boa disponibilidade de nutrientes. Já outros fungos, como o *Fusarium*, podem não ser tão exigentes às quantidades de nutrientes no solo, mas sim, dependentes de outros fatores como, matéria orgânica, umidade, temperatura, ou somente presença de hospedeiro.

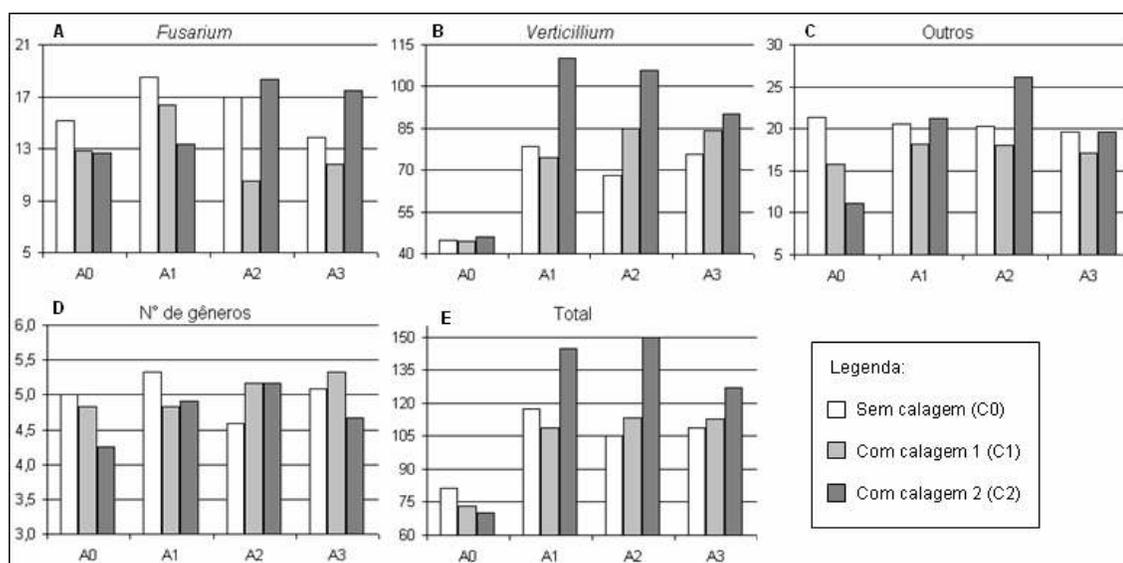


Figura 14 – Número de UFCs mg^{-1} de solo de *Fusarium* (A), *Verticillium* (B), outros fungos (C), número de gêneros (D) e total (E), presentes no solo, em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK).

A interação entre os fatores F, C e A (Tabela 9) somente foi significativa para a população de *Verticillium* e a população total de fungos presentes no solo, esta, provavelmente, influenciada pela grande população de *Verticillium* em relação as demais.

Tabela 12 – Equações polinomiais e parâmetros de precisão que melhor se ajustaram aos dados obtidos para o número de UFCs mg^{-1} de solo de *Verticillium* e população total, presentes no solo em função da combinação dos fatores C (níveis de calagem) e A (níveis de adubação NPK).

Variáveis	Fator (C)	Equações polinomiais para os níveis do		Prob.>F	r ²
		Fator (A)			
<i>Verticillium</i>	C0	Y = 6,590868 + 0,0557904x		0,00002*	0,52
	C1	Y = 3,801295 + 0,3345316x - 0,00504869x ²		0,00019*	0,99
	C2	Y = 1,690302 + 0,6374963x - 0,01121188x ²		0,00001*	0,94
Total	C0	Y = 7,175501 + 0,2379241x - 0,00401049x ²		0,00015*	0,72
	C1	Y = 6,040196 + 0,3030803x - 0,00475479x ²		0,00003*	0,97
	C2	Y = 2,927105 + 0,6705115x - 0,01164335x ²		0,00001*	0,98

(*) Efeito significativo a 5% de probabilidade de erro.

A quantificação do inóculo é fundamental para a maioria dos trabalhos que envolvem patógenos radiculares, sobretudo, em estudos epidemiológicos. Frequentemente esses estudos visam a estabelecer relações quantitativas entre doença e população de patógeno e os fatores de interesse. As possibilidades de infecção de plantas por patógenos do sistema radicular relacionam-se à quantidade de inóculo disponível. Essa relação é mais importante para patógenos do sistema radicular que para os da parte aérea, em vista da baixa capacidade de redistribuição dos primeiros, os quais normalmente causam doenças monocíclicas (MAFFIA & MIZUBUTI, 2005; MICHEREFF et al., 2005).

Em trabalhos de densidade de inóculo (DI) x índice de doença (ID), vários termos como potencial de inóculo, eficiência de inóculo e densidade de inóculo são utilizados. Dentre as três medidas propostas, a densidade de inóculo (DI) é a mais passível de quantificação acurada. A DI é expressa como o número de propágulos por unidade de peso ou de volume de solo. Para patógenos que existem em estádios múltiplos ou desconhecidos no solo (bactérias, fungos que sobrevivem como hifas ou escleródios), avaliam-se as unidades formadoras de colônias (UFCs) (MAFFIA & MIZUBUTI, 2005).

A população de *Fusarium* estabelecida ao final do experimento nos tratamentos inoculados, em média, foi de 18,76 UFCs mg^{-1} de solo, enquanto que nos tratamentos não-inoculados, a média foi de 3 UFCs mg^{-1} de solo. Menezes (2007) analisando a população fúngica presente no solo cultivado com crisântemo, em casa de vegetação, encontrou 14,6 UFCs mg^{-1} de solo de *Fusarium*, 17,2% do total. Essa população foi suficiente para causar sérios danos à cultura de crisântemo, ocasionada pela doença de murcha-vascular. Portanto, pode-se dizer que a quantidade de inóculo presente no solo, nesse estudo, foi suficiente para o

estabelecimento da doença e, que a quantidade e o método de inoculação foram adequados para o estabelecimento do *Fusarium*.

A maior população presente foi do gênero *Verticillium*, em média, 69% do total, 75,5 UFCs mg⁻¹ de solo. Uma hipótese para justificar a grande quantidade desse fungo, seria a de que ele é um habitante natural, abundante, no solo utilizado neste experimento.

As populações dos demais fungos somam, em média, 19,1 UFCs mg⁻¹ de solo, perfazendo 17,5% do total presente, que foi de 109,43 UFCs mg⁻¹ de solo. A população fúngica encontrada neste estudo, foi bem acima da encontrada por Menezes (2007) em solo com cultivo de crisântemo, em casa de vegetação, que foi de 84,7 UFCs mg⁻¹ de solo. O resultado encontrado, neste estudo, foi provavelmente, influenciado pela população de *Verticillium*.

Nas amostras de raízes e parte aérea, colocadas em câmara úmida, observou-se que, em 100% dos tratamentos inoculados, ocorreu crescimento de *Fusarium*, partindo dos tecidos internos das mudas, após seis dias de incubação (Apêndice 7). Isso mostra que embora a erva-mate tenha mostrado, em alguns tratamentos, resistência ao patógeno, não conseguiu impedir a penetração e a colonização. Nos tratamentos sem inoculação, não houve desenvolvimento de *Fusarium*.

4.2 Estudo 2 – Efeito da intensidade de sombreamento na incidência e severidade da podridão-de-raízes da erva-mate

4.2.1 Propriedades químicas do solo

A Tabela 13 apresenta a análise química do solo antes e ao final do experimento. Observa-se que houve pouca redução nos teores de nutrientes encontrados no solo do início para o final do experimento, portanto, não houve impedimentos nutricionais que poderiam interferir no bom desenvolvimento da espécie, estando os teores dentro do recomendado para a erva-mate. A redução nos teores de nutrientes, observados ao final do experimento, é decorrente da absorção e incorporação na biomassa da erva-mate. O fósforo, o potássio, o cálcio e o magnésio são considerados altos antes e ao final do experimento, exceto para o Ca que passou a ser médio. A quantidade de matéria orgânica é considerada média antes da

instalação do experimento e continuou média até o final, com um valor muito próximo ao encontrado no início (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004).

Tabela 13 – Análise química do solo inicial e ao final do experimento.

	MO	Argila	pH	Índice	P*	K*	Ca	Mg	Al	CTC _{pH_{7,0}}	V	m
	g dm ⁻³	H ₂ O	SMP	mg dm ⁻³				cmol _c dm ⁻³			%	
Inicial	28	250	5,4	6,1	14,3	84	5,8	1,9	0	11,7	68	0
Final	26	240	5,4	6,0	14,0	80	2,5	1,7	0	8,8	50	0

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

4.2.2 Efeito dos tratamentos na incidência e severidade da doença

Na análise dos sintomas da parte aérea e radicular apresentados pelas mudas, observaram-se respostas isoladas nos diferentes tratamentos. Na Figura 15, observam-se os gráficos das notas atribuídas aos sintomas necrose das folhas, clorose, amarelecimento, queda de folhas e necrose das raízes (Apêndice 6), nos diferentes tratamentos. A análise da variância pelo teste de Friedman mostrou que houve efeito significativo dos tratamentos para todos os sintomas observados.

O teste da Soma das Ordens de Wilcoxon, para comparação entre tratamentos, não foi bom para esse tipo de experimento. Por esse teste, não foi possível verificar diferenças na maioria dos tratamentos, isso, provavelmente, é efeito do pequeno intervalo de notas (0 a 5) atribuídas aos sintomas, e pelo fato de, na maioria das vezes, as cinco repetições de cada tratamento receberem notas heterogêneas.

Para a necrose de folhas (Figura 15 A), os sintomas se manifestaram mais intensamente nos tratamentos com menores níveis de sombreamento, sendo os tratamentos do nível 1 com as maiores notas e decrescendo sucessivamente até o nível 5. A análise da variância mostrou que o efeito dos tratamentos é significativo ($p < 0,00008$). As notas atribuídas a esse sintoma, nos tratamentos inoculados com *Fusarium* spp., foram, em média, 24% superiores aos não-inoculados.

O sintoma clorose das folhas (Figura 15 B) foi pouco evidente nos níveis 3 e 4 de sombreamento e, nos níveis 1 e 2, praticamente não ocorreu, provavelmente, pela maior severidade da necrose e queda de folhas. Já para o nível 5, houve ausência do sintoma. A

análise da variância mostrou efeito significativo dos tratamentos para este sintoma ($p < 0,03935$). As notas atribuídas aos tratamentos com inoculação de *Fusarium* spp. foram, em média, 56% maiores que as dos não-inoculados.

Quanto ao sintoma amarelecimento das folhas (Figura 15 C), as maiores notas foram atribuídas aos tratamentos dos níveis 2, 3 e 4 de sombreamento. No nível 1, o sintoma quase não foi observado, provavelmente, pela maior severidade da necrose e queda de folhas. Nas mudas submetidas ao maior sombreamento (nível 5), o sintoma de amarelecimento esteve presente, com baixa intensidade, quando foi inoculado com *Fusarium*. A análise da variância mostrou que houve efeito significativo dos tratamentos ($p < 0,00087$). Na média entre tratamentos, as notas atribuídas à severidade do sintoma nos tratamentos inoculados com *Fusarium* spp. foram, em média, 38% maiores que as dos não-inoculadas, sendo observada a maior diferença (85%) no nível 4 de sombreamento.

As maiores notas atribuídas ao sintoma queda de folhas foram para os tratamentos do nível 1 de sombreamento. Nesse nível, as mudas inoculadas com *Fusarium* spp. chegaram a apresentar nota 5 (100% de queda de folhas), diminuindo sucessivamente nos níveis 2 e 3 até praticamente não ocorrer sintoma nos níveis 4 e 5 (Figura 15 D). A análise da variância mostrou que houve efeito significativo dos tratamentos ($p < 0,00012$) e na média entre tratamentos, as notas atribuídas ao sintoma, nos inoculados com *Fusarium* spp., foram 21% maiores que as dos não-inoculados.

Na análise do sistema radicular, observou-se necrose e as maiores notas foram atribuídas aos tratamentos do nível 1 de sombreamento, diminuindo, sucessivamente, à medida que o sombreamento aumentou, chegando a nota 0 no nível 5 (Figura 15 E). Em média, as notas atribuídas à severidade do sintoma nos tratamentos com inoculação de *Fusarium* spp. foram 40% maiores que os não-inoculados. A análise da variância mostrou que houve efeito significativo dos tratamentos ($p < 0,00017$).

Na Figura 15 F, observa-se o gráfico representando a soma total dos sintomas. Nota-se que os tratamentos do nível 1 apresentaram as maiores notas, diminuindo sucessivamente com o aumento do sombreamento. O tratamento inoculado com *Fusarium* spp. e submetido ao nível 5 de sombreamento praticamente não apresentou sintomas, recebendo a nota 0,4 e sua testemunha, sem inoculação, não apresentou nenhum sintoma. Em média, os tratamentos com inoculação de *Fusarium* spp. obtiveram notas 32% maiores que os não-inoculados. Houve efeito significativo dos tratamentos ($p < 0,0001$) pela análise da variância.

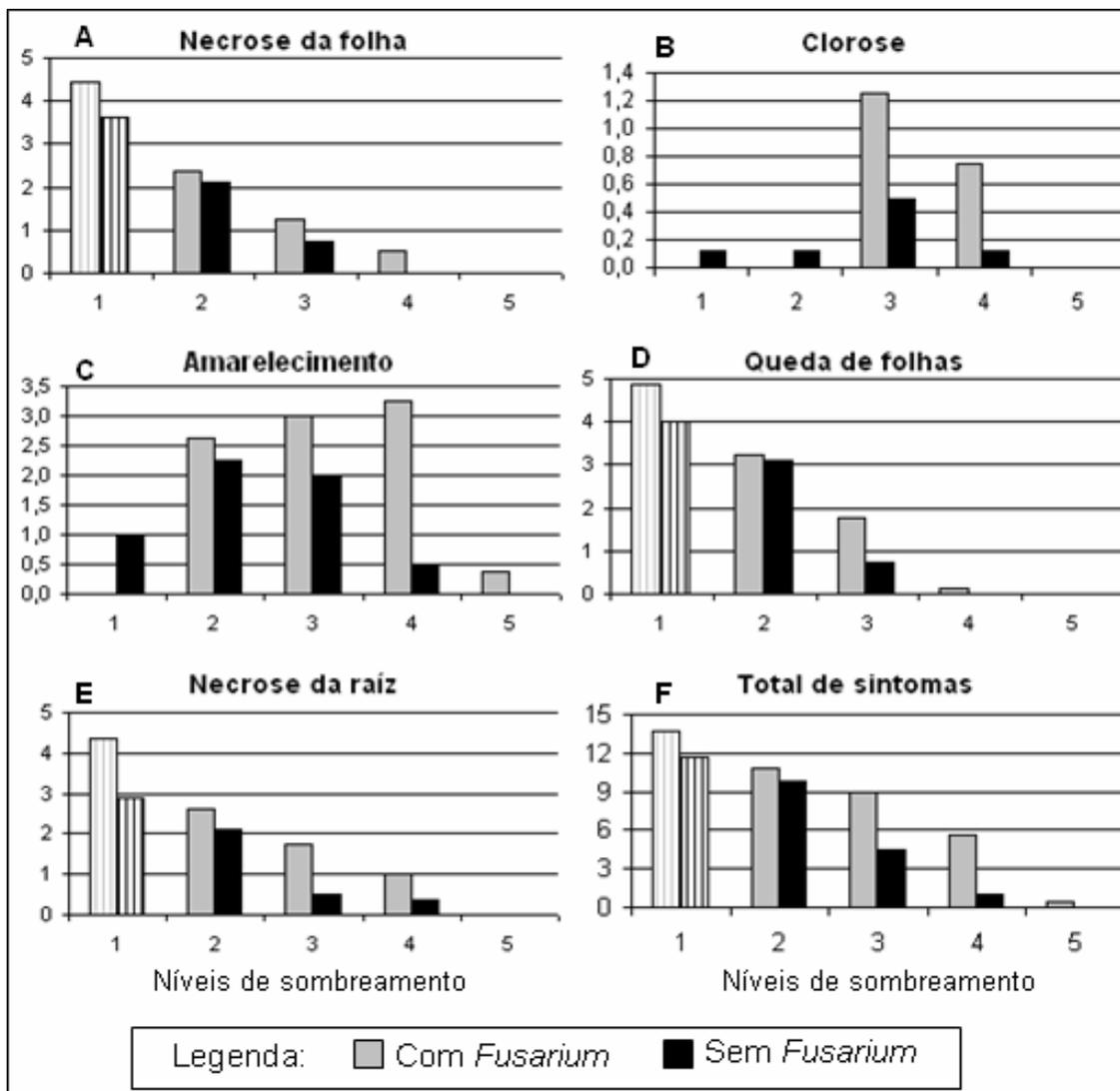


Figura 15 – Gráficos dos sintomas: necrose de folhas (A), clorose (B), amarelecimento (C), queda de folhas (D), necrose de raízes (E) e total dos sintomas (F) nas mudas inoculadas ou não com *Fusarium* spp. nos diferentes níveis de sombreamento. As colunas achureadas referem-se aos dados obtidos com as mudas que morreram antes do término do experimento somadas às que estavam vivas. Os valores do eixo X referem-se aos níveis de sombreamento: 1 = pleno sol, 2 = 26%, 3 = 41%, 4 = 84%, 5 = 95% de sombreamento.

Diante do exposto, na Figura 15, observa-se que o melhor desenvolvimento morfológico das mudas ocorreu nos maiores níveis de sombreamento e ao contrário, nos menores níveis, estas apresentaram desenvolvimento reduzido e sintomas de estresse ambiental. No geral, observou-se uma tendência de aumento da severidade dos sintomas causados por *Fusarium* spp. dos maiores para os menores níveis de sombreamento, indicando que as plantas estressadas ficam mais suscetíveis ao ataque do patógeno.

A influência da luminosidade e da temperatura também foi observada por Borges Neto et al. (2004) na severidade de *Fusarium graminearum* no biocontrole de *Egeria densa* e

Egeria najas. O aumento da temperatura ambiental, associada ao menor período de luminosidade, aumentou a severidade da doença.

Na literatura, os trabalhos encontrados envolvendo o sombreamento relacionado à incidência e severidade de doenças são escassos e envolvem patógenos da parte aérea. Não foi possível encontrar trabalhos que envolvam patógenos radiculares para discutir com os resultados encontrados no presente estudo.

4.2.3 Efeito dos tratamentos nos parâmetros de crescimento das mudas

Na Tabela 14, são apresentados os valores de significância obtidos na análise da variância para as parâmetros de crescimento medidas nas mudas de erva-mate em função dos fatores F e B e sua interação (F x B). Para o fator F (inoculação ou não de *Fusarium*), observa-se que houve efeito significativo para a maioria das variáveis, exceto para a biomassa radicular (BMR) e total (BMT). No fator B (níveis de sombreamento), observou-se significância em todas as variáveis e na interação entre fator F e B, somente as variáveis número de folhas, diâmetro e BMA/BMR foram significativas. O coeficiente de variação (CV%) (Tabela 14) encontra-se de acordo com os normalmente encontrados em experimentos com erva-mate (STORK et al., 2002).

Tabela 14 – Níveis de significância na análise da variância para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os fatores F (inoculação ou não de *Fusarium spp.*) e B (níveis de sombreamento) e sua interação.

CV	Variáveis / P < F						
	N. folhas	Altura	Diâmetro	BMA	BMR	BMT	BMA/BMR
Fus (F)	0,00480*	0,04444*	0,01023*	0,02402*	0,64399ns	0,07591ns	0,00077*
Som (B)	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*	0,00001*
A*B	0,02599*	0,16066ns	0,03088*	0,11873ns	0,84837ns	0,54442ns	0,00329*
CV (%)	12,9	25,6	18,0	30,1	30,1	29,7	17,4

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Na Tabela 15, são apresentados os valores médios dos parâmetros de crescimento para os níveis do fator F. Observa-se que o nível com inoculação de *Fusarium spp.* apresentou

os menores resultados em comparação ao não-inoculado, embora as variáveis BMR e BMT não tenham apresentado diferenças estatísticas.

Esses resultados mostram que a inoculação de *Fusarium* spp. foi prejudicial ao desenvolvimento das mudas, evidenciando o potencial desse patógeno em causar danos à erva-mate.

Tabela 15 – Teste de Tukey na comparação de médias para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os níveis do fator F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.).

<i>Fusarium</i>	N. folhas	Altura	Diâmetro	BMA	BMR	BMT	BMA/BMT
sem	13,5 a	18,5 a	5,0 a	3,2 a	2,0 a	5,2 a	1,4 a
com	11,4 b	15,6 b	4,2 b	2,5 b	1,8 a	4,4 a	1,1 b

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

Na Tabela 16, podem-se observar as equações que melhor se ajustaram aos dados obtidos para os parâmetros de crescimento em função dos níveis de sombreamento (Fator B) bem como os parâmetro de precisão ($\text{Prob.} > F$ e r^2). Observa-se que, entre as variáveis, houve mais de uma equação (linear, quadrática ou cúbica) que se ajustou com precisão aos dados.

Embora sem diferença estatística significativa, observa-se que, na Figura 16, os valores para as diferentes variáveis, obtidos nos tratamentos com a inoculação de *Fusarium* spp., foram menores que os não-inoculados, em todos os níveis de sombreamento, exceto para o segundo nível em que, para algumas variáveis (Figura 16 B, C, F e G), os valores foram maiores no tratamento inoculado, provavelmente por algum erro experimental não-identificado. Todas as mudas inoculadas com *Fusarium* spp., que estavam a pleno sol, morreram antes do término do experimento, diferentemente das não-inoculadas, que permaneceram vivas.

Para o número de folhas (Figura 16 A) e a altura (Figura 16 B), as equações, que melhor se ajustaram aos dados, foram lineares positivas (Tabela 16). Houve um incremento no número de folhas e na altura das mudas de 89 e 84%, respectivamente, do menor para o maior nível de sombreamento (Apêndice 4 A e B). Efeito semelhante também foi observado para a BMA e a BMT (Figura 16 B e F). As equações que melhor se ajustaram foram lineares positivas, havendo um incremento de 92 e 91% da BMA e da BMT, respectivamente, do menor para o maior nível de sombreamento.

Tabela 16 – Equações polinomiais testadas para os parâmetros de crescimento: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa seca aérea (BMA) biomassa seca radicular (BMR) biomassa seca total (BMT) e relação BMA/BMT e parâmetros de precisão, em função dos níveis de sombreamento (Fator B).

Variáveis	Equações polinomiais	Prob.>F	r ²
N. folhas	$Y = 1,823759 + 0,0310071x$	0,00001*	0,92
	$Y = 1,453495 + 0,0606282x - 0,00029621x^2$	0,00023*	0,99
	$Y = 1,391361 + 0,0784401x - 0,00079329x^2 + 0,000003314x^3$	0,20843ns	0,99
Altura	$Y = 1,823759 + 0,2386500x$	0,00001*	0,98
	$Y = 1,453495 + 0,0606282x - 0,00029621x^2$	0,81021ns	0,98
	$Y = 1,391361 + 0,0784401x - 0,00079329x^2 + 0,000003314x^3$	0,73370ns	0,98
Diâmetro	$Y = 2,534250 + 0,0414300x$	0,00001*	0,74
	$Y = 1,545679 + 0,1205157x - 0,00079086x^2$	0,00003*	0,97
	$Y = 1,477179 + 0,1401524x - 0,00133886x^2 + 0,000003653x^3$	0,51713ns	0,98
BMA	$Y = 0,485000 + 0,0473850x$	0,00001*	0,88
	$Y = 0,049464 + 0,0822279x - 0,00034843x^2$	0,01142*	0,93
	$Y = 0,376839 - 0,0116196x + 0,00227057x^2 - 0,000017460x^3$	0,00222*	0,99
BMR	$Y = 0,644500 + 0,0255750x$	0,00001*	0,68
	$Y = 0,050036 + 0,0731321x - 0,00047557x^2$	0,00005*	0,89
	$Y = 0,303161 + 0,0005696x + 0,00154943x^2 - 0,000013500x^3$	0,00075*	0,99
BMT	$Y = 1,128750 + 0,0729450x$	0,00001*	0,82
	$Y = 0,099643 + 0,1552736x - 0,00082329x^2$	0,00087*	0,91
	$Y = 0,680018 - 0,0111006x + 0,00381971x^2 - 0,000030953x^3$	0,00127*	0,99
BMA/BMR	$Y = 0,577500 + 0,0138950x$	0,00001*	0,87
	$Y = 0,495536 + 0,0204521x - 0,00006557x^2$	0,05613ns	0,89
	$Y = 0,375286 + 0,0549238x - 0,00102757x^2 + 0,000006413x^3$	0,00012*	0,99

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro.

Para as variáveis BMR e diâmetro do colo (Figura 16 D e E), as equações que melhor se ajustaram aos dados foram de ordem quadrática (Tabela 16), sendo os maiores valores observados no nível 5 (84% de sombreamento).

Na Figura 16 G, observa-se que a relação BMA/BMR das mudas foi menor que 1 nas mudas a pleno sol, aumentando conforme o nível de sombreamento. Segundo Carneiro (1995), para mudas da maioria das espécies florestais, essa relação deve permanecer entre 2 e 2,5 para ser ideal. Os menores valores obtidos nessa relação, nos níveis de menor sombreamento, pode ter sido pela grande queda de folhas ocorrida e pelo menor desenvolvimento da parte aérea das mudas prejudicadas pelo excesso de sol.

Mazuchowski (2004) observou que mudas de erva-mate cultivadas a pleno sol, não tiveram desenvolvimento satisfatório e até morreram. Os aspectos relevantes, de condição ambiental mais adequada, à erva-mate foi nos sombreamentos de 50 a 70%. As maiores alturas de plantas foram verificadas nas condições crescentes de sombreamento, tendendo à

redução pelo aumento da luminosidade ambiental. O mesmo autor também observou que as condições de maior sombreamento favoreceram o incremento do peso úmido e do peso seco da biomassa foliar bem como do sistema radicular.

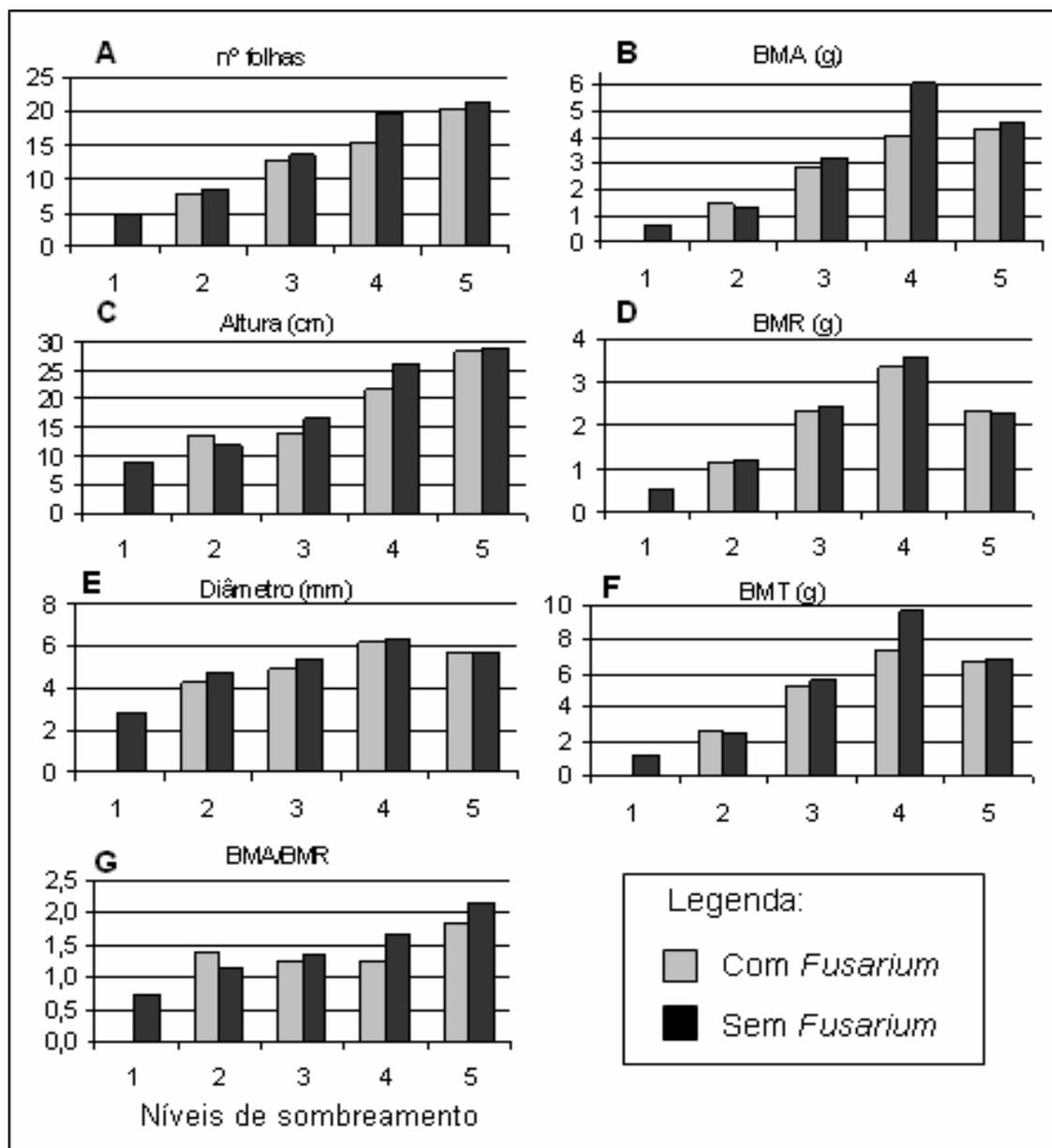


Figura 16 – Gráficos das variáveis número de folhas (A), (BMA) biomassa seca aérea (B), altura (C), (BMR) biomassa seca radicular (D), diâmetro do colo (E), (BMT) biomassa seca total (F) e a relação BMA/BMR (G) das mudas inoculadas ou não com *Fusarium* spp. nos diferentes níveis de sombreamento (Fator B). Os valores do eixo X referem-se aos níveis de sombreamento: 1 = pleno sol, 2 = 26%, 3 = 41%, 4 = 84%, 5 = 95% de sombreamento.

O efeito do sombreamento influencia as características do ambiente e das mudas sob as campânulas como: a umidade e a temperatura do ar e do solo, diminuindo os extremos; velocidade do vento; evapotranspiração; e características morfológicas e bioquímicas como área folhar, peso de biomassa aérea e radicular, taxa de fotossíntese, etc. (MAZUCHOWSKI et al., 2003).

Efeito significativo de níveis de sombreamento em erva-mate também foi observado por Brena et al. (2002). Os autores encontraram respostas quadráticas nas variáveis altura, diâmetro do colo e número de folhas em função do sombreamento, sendo que a máxima eficiência técnica se estabeleceu acima do maior nível de sombreamento testado (70%).

O melhor desenvolvimento das mudas de erva-mate nos maiores níveis de sombreamento pode ser atribuído a uma característica natural da espécie, classificada como clímax, ambientalmente adaptada ao interior de florestas, tolerante ao sombreamento inicial, podendo germinar, sobreviver e desenvolver-se sob dossel fechado e com pouca luz.

Aspectos semelhantes ao da erva-mate foram observados por Lima Junior et al. (2005) para o camboatá (*Cupanea vernalis* Camb.), também uma espécie clímax. Os autores observaram que o melhor desenvolvimento de mudas da espécie ocorreu sob condições de 50 e 70% de sombreamento.

Almeida et al. (2004) estudaram a exigência à luminosidade por mudas de canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* Mez.), produzidas sob sombrite com diferentes graus de permeabilidade de luz e a pleno sol, e observaram que o sombreamento de 30 e 50% foi o que proporcionou maior desempenho vegetativo. Inoue & Torres (1980) observaram que, quanto maior o sombreamento, menor foi a produção de biomassa seca de mudas de pinheiro (*Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Ktze.), sendo os maiores valores observados nas mudas a pleno sol. Scalon et al. (2006) observaram que mudas de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) apresentaram maior crescimento inicial a pleno sol, enquanto mudas de sombreiro (*Clitoria fairchildiana* Howard) se desenvolveram melhor em 50 a 70% de sombreamento. Portanto, cada espécie, clímax ou pioneira, exige um grau de luminosidade/sombreamento ideal para seu desenvolvimento.

4.2.4 Efeito dos tratamentos na população fúngica do solo

A quantidade de radiação solar exercida sobre o solo determina variações diárias e sazonais na temperatura deste, sobretudo nas camadas superficiais. Assim, várias pesquisas têm demonstrado a existência de uma estreita correlação entre atividade biológica e a temperatura do solo. O efeito da luz sobre os microrganismos do solo é exercido diretamente para aqueles presentes na superfície, ou indiretamente, por meio das plantas, para aqueles que habitam as camadas mais profundas do solo, na região da influência rizosférica ou em simbiose com as raízes, dependendo dos produtos fotossintetizados que a planta destina à raiz, seja diretamente ou como exsudatos (TSAI et al., 1992).

Quanto à população fúngica no solo ao final do presente experimento, os gêneros identificados nas diluições foram: *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, *Pseudobotrytis*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Epicoccum*, *Monilia*, *Trichoderma*, *Gliocephalis*, *Curvularia* e *Dichobotrys*.

Segundo Stamford et al. (2005), os fungos são encontrados no solo com variação entre 10^4 a 10^6 UFCs g^{-1} de solo. Além da grande importância como responsáveis pela maior parte das doenças das plantas, realizam funções como: imobilização, adição de matéria orgânica, solubilização de nutrientes, agregação do solo e ação predatória. Segundo os mesmos autores, os fungos mais comuns encontrados no solo são dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Plasmodiophora*, *Rhizopus*, *Sclerotium*, *Scopulariopsis*, *Thielaviopsis* e *Trichoderma*.

Por apresentarem-se em maior número, as populações de *Fusarium* e *Verticillium*, encontradas neste estudo, foram analisadas estatisticamente, as demais foram somadas compondo a variável “outros”, a variável “n. de gêneros” foi composta pela contagem do número de gêneros presentes em cada tratamento e a variável “total” foi somado o número de UFCs de todos os gêneros presentes. Na Tabela 17, são apresentados os valores de significância pela análise da variância para essas variáveis.

Observa-se, na Tabela 17, que as variáveis *Fusarium*, outros e número de gêneros não apresentaram significância para os fatores F (inoculação ou não de *Fusarium*) e B (níveis de sombreamento), nem na interação entre ambos, diferentemente da população de *Verticillium*, que apresentou significância em ambos os fatores e também na interação. Para a variável população total, a significância estatística foi somente para o fator B.

Tabela 17 – Níveis de significância para a população dos fungos *Fusarium*, *Verticillium*, outros fungos, número de gêneros e população total de gêneros presentes no solo em função dos fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e B (níveis de sombreamento) e interação entre ambos.

CV	Variáveis / P < F				
	<i>Fusarium</i>	<i>Verticillium</i>	Outros	N. de gêneros	Total
Fusa. (F)	0,14004ns	0,00155*	0,02453*	0,50826ns	0,20574ns
Somb. (B)	0,55725ns	0,01795*	0,83955ns	0,58062ns	0,00109*
A*B	0,96315ns	0,01521*	0,73587ns	0,53710ns	0,34678ns
CV (%)	15,9	28,0	29,4	11,4	11,1

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

A população de *Fusarium* (Figura 17 A) apresentou uma tendência de resposta linear positiva aos níveis de sombreamento (Tabela 18), embora sem significância estatística. Em média, a população desse fungo apresentou 16,5 UFCs mg⁻¹ de solo, sendo que, nos tratamentos inoculados, o número de UFCs foi 16,6% maior que nos não-inoculados, em média.

Nesse caso, pode-se afirmar que o efeito dos níveis de sombreamento teve pouca influência sobre a população de *Fusarium* spp. do solo. Uma hipótese para esse resultado, seria a de que, mesmo com as diferenças ambientais proporcionadas pelos níveis de sombreamento, o ambiente do solo não foi afetado suficientemente para favorecer ou desfavorecer *Fusarium* spp., ou então, esse fungo possui uma alta plasticidade e/ou capacidade de adaptação a ambientes diversos.

Para sobreviverem no solo, ambiente em constante modificação, alguns fungos se adaptam para utilizar as mais diversas fontes de energia e sob as mais diversas condições ambientais como, concentrações de oxigênio, umidade, temperatura, etc. (NEVES, 1992).

Para a população de *Verticillium* (Figura 17 B), houve diferença significativa, pelo teste de Tukey, na média entre os níveis do fator F (inoculação ou não de *Fusarium*). Os níveis inoculados apresentaram uma população 51% menor que os tratamentos não-inoculados. Houve uma resposta linear positiva do número de UFCs aos níveis de sombreamento (Tabela 18). Em média, o número de UFCs aumentou de 1,4 UFCs mg⁻¹ de solo nos tratamentos a pleno sol, para 4,8 UFCs mg⁻¹ de solo nos mais sombreados, com um aumento de 70%.

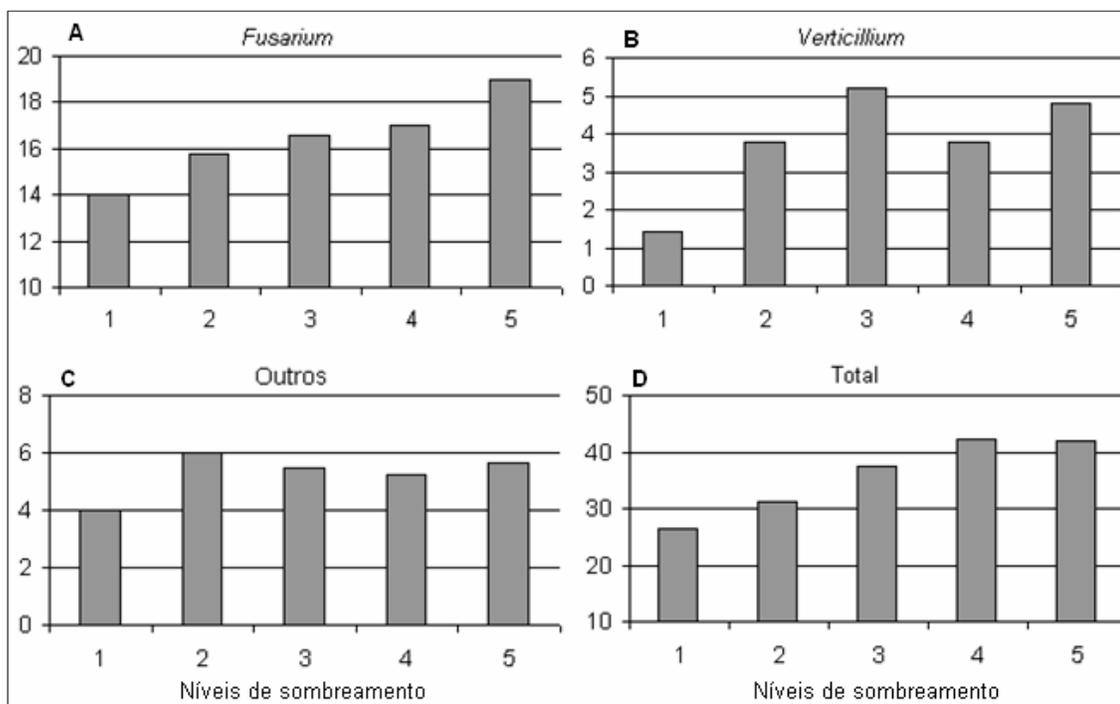


Figura 17 – Número de UFCs mg⁻¹ de solo de *Fusarium* (A), *Verticillium* (B), outros fungos (C) e total (D) presentes no solo em função dos diferentes níveis de sombreamento (Fator B). Os valores do eixo X referem-se aos níveis de sombreamento: 1 = pleno sol, 2 = 26%, 3 = 41%, 4 = 84%, 5 = 95% de sombreamento.

Nota-se que a população de *Verticillium*, diferentemente de *Fusarium*, tem seu desenvolvimento reduzido nos níveis de maior sombreamento, sendo influenciada significativamente.

Tabela 18 – Equações polinomiais testadas e parâmetro de precisão para as variáveis *Fusarium*, *Verticillium*, outros e população total presente no solo em função dos níveis de sombreamento (Fator B).

Variáveis	Equações polinomiais	Prob.>F	r ²
<i>Fusarium</i>	$Y = 3,801023 + 0,0055032x$	0,06400ns	0,94
	$Y = 3,828666 + 0,0032918x + 0,00002211x^2$	0,81746ns	0,95
	$Y = 3,801802 + 0,0109929x - 0,00019280x^2 + 0,000001433x^3$	0,71411ns	0,80
<i>Verticillium</i>	$Y = 1,613476 + 0,0069153x$	0,00827*	0,57
	$Y = 1,427705 + 0,0217771x - 0,00014862x^2$	0,07955ns	0,79
	$Y = 1,331214 + 0,0494377x - 0,00092054x^2 + 0,000005146x^3$	0,12221ns	0,97
Outros	$Y = 2,197077 + 0,0023178x$	0,54174ns	0,41
	$Y = 2,129530 + 0,0077215x - 0,00005404x^2$	0,60912ns	0,61
	$Y = 2,080842 + 0,0216787x - 0,00044354x^2 + 0,000002597x^3$	0,53366ns	0,89
Total	$Y = 5,249165 + 0,0144630x$	0,00012*	0,93
	$Y = 5,105461 + 0,0259593x - 0,00011496x^2$	0,26131ns	0,99
	$Y = 5,147431 + 0,0139280x + 0,00022079x^2 - 0,000002238x^3$	0,58337ns	0,99

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro.

A soma da população dos demais fungos (outros, Tabela 17) apresentou significância somente no fator F (inoculação ou não de *Fusarium*). A comparação de médias pelo teste de Tukey, mostrou que houve superioridade no número de UFCs dos tratamentos não-inoculados em comparação aos inoculados, em média 39%, (4 UFCs mg⁻¹ de solo e 6,5 UFCs mg⁻¹ de solo, respectivamente).

O número de gêneros identificados não apresentou significância em resposta aos fatores F e B, nem na sua interação. O mínimo e o máximo de gêneros identificados nos tratamentos foram de 3 e 9, respectivamente.

A população fúngica total do solo (Figura 17 D) somente apresentou significância para o fator B, apresentando resposta linear positiva aos níveis de sombreamento (Tabela 18), obtendo em média, 26 UFCs mg⁻¹ de solo nos tratamentos a pleno sol para 42 UFCs mg⁻¹ de solo, nos mais sombreados, um aumento de 37%. Esses resultados indicam que, em geral, a população fúngica do solo desenvolveu-se melhor em uma condição de maior sombreamento.

Da mesma forma que no estudo anterior, nas amostras de raízes e parte aérea, colocadas em câmara úmida, observou-se que em 100% dos tratamentos inoculados ocorreu crescimento de *Fusarium*, partindo dos tecidos internos das mudas, após seis dias de incubação (Apêndice 7). Os maiores níveis de sombreamento proporcionaram efeito positivo no desenvolvimento da erva-mate e na resistência ao patógeno, mas não proporcionaram impedimentos para este penetrar e colonizar os tecidos internos da planta. Nos tratamentos sem inoculação, não houve desenvolvimento de *Fusarium*.

4.3 Estudo 3 – Uso de produtos comerciais para controle biológico da podridão-de-raízes da erva-mate

4.3.1 Propriedades químicas do solo

Na Tabela 19, é apresentada a análise química do solo antes e ao final do experimento. Observa-se que houve pouca redução nos teores de nutrientes encontrados no solo no início e ao final do experimento e, por ser o mesmo solo usado no estudo anterior, também não houve impedimentos nutricionais que poderiam interferir no bom desenvolvimento da erva-mate. A redução nos teores de nutrientes, observados ao final do experimento, é decorrente da

absorção pelas mudas e incorporação na biomassa. Os teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio são considerados altos antes e após a condução do estudo, exceto para o Ca que passou a ser médio. A quantidade de matéria orgânica é considerada média. Não houve necessidade de calagem pelos altos teores de Ca e Mg (COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO, 2004).

Tabela 19 – Análise química do solo inicial e ao final do experimento.

	MO	Argila	pH	Índice	P*	K*	Ca	Mg	Al	CTC _{pH_{7,0}}	V	m
	g dm ⁻³		H ₂ O	SMP	mg dm ⁻³				cmol _c dm ⁻³		%	
Inicial	28	250	5,4	6,1	14,3	84	5,8	1,9	0	11,7	68	0
Final	27	220	5,3	6,2	18,9	72	2,6	1,9	0,15	8,2	57	3

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

4.3.2 Efeito dos tratamentos na incidência e severidade da doença, nos parâmetros de crescimento e na população fúngica do solo

Para Cook & Baker, (1983) *apud* Mariano et al. (2005), doença de planta, no contexto de controle biológico, inclui a interação planta, patógeno, ambiente e uma variedade de não-patógenos que se encontram no sítio de infecção e que apresentam potencial para limitar ou aumentar a atividade do patógeno ou a resistência do hospedeiro.

Na análise dos sintomas da parte aérea e radicular apresentados pelas mudas, observaram-se respostas isoladas nos diferentes tratamentos, porém, a análise da variância mostrou que não houve significância: clorose ($p < 0,7029$), necrose das folhas ($p < 0,0515$), queda de folhas ($p < 0,8333$), necrose de raízes ($p < 0,0512$). Dentre esses, a clorose e a necrose foram os mais severos.

Embora os tratamentos não-inoculados não apresentassem qualquer sintoma, as notas atribuídas aos inoculados foram baixas o suficiente para não representar diferenças estatísticas entre ambos.

Da mesma forma, a análise da variância para os parâmetros de crescimento: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR), total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMT) mostrou que não houve significância para os fatores F e B, nem na interação entre ambos (Tabela 20).

Tabela 20 – Níveis de significância na análise da variância para as variáveis: número de folhas, altura, diâmetro do colo, biomassa aérea (BMA), radicular (BMR) e total (BMT) e relação biomassa aérea/radicular (BMA/BMR), para os fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e B (bioprotetores comerciais) e sua interação.

CV	Variáveis / P < F						
	N. folhas	Altura	Diâmetro	BMA	BMR	BMT	BMA/BMR
Fus. (F)	0,90202ns	0,91011ns	0,74019ns	0,90240ns	0,30202ns	0,94724ns	0,23320ns
Bio. (B)	0,70470ns	0,27030ns	0,54807ns	0,68270ns	0,24952ns	0,80339ns	0,25461ns
A*B	0,87328ns	0,96095ns	0,98581ns	0,98313ns	0,05457ns	0,97668ns	0,56430ns
CV (%)	15,71	31,39	21,64	47,29	79,04	46,01	27,10

(*) Efeito significativo e (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Os valores médios obtidos nestas variáveis foram: 24 para número de folhas; 38,8 cm para altura; 8,1 mm para diâmetro do solo; 7,7 g para biomassa aérea (BMA); 3,8 g para biomassa radicular (BMR); 11,5 g para biomassa total (BMT) e 2,1 para relação biomassa aérea/radicular BMA/BMT. Isso indica que as mudas tiveram um desenvolvimento normal.

Quanto à população fúngica presente no solo, a análise da variância não mostrou significância para os fatores isolados, nem para a interação F e B (Tabela 21). Foram identificados os gêneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Rhizopus*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Mucor* e *Cladosporium*. A soma do número de UFCs das populações desses fungos foi de 43 UFCs mg⁻¹ de solo. O número mínimo e máximo de gêneros encontrados por tratamento variou de 3 a 9, respectivamente.

Por apresentarem-se em maior número, as populações de *Fusarium* e *Penicillium*, encontradas neste estudo, foram analisadas estatisticamente, as demais foram somadas compondo a variável “outros”, a variável “n. de gêneros” foi composta pela contagem do número de gêneros presentes em cada tratamento e a variável “total” foi somado o número de UFCs de todos os gêneros presentes.

A maior população encontrada foi de *Fusarium*, com 21 UFCs mg⁻¹ de solo, perfazendo 49% do total. Essa população é superior à encontrada por Menezes (2007) que, analisando a população fúngica presente no solo cultivado com crisântemo, em casa de vegetação, encontrou 14,6 UFCs mg⁻¹ de solo de *Fusarium*, 17,2% do total e, ocasionando sérios problemas de murcha-vascular. Portanto, pode-se dizer que a quantidade de inóculo presente no solo deste estudo, foi suficiente para o estabelecimento da doença.

Tabela 21 – Níveis de significância para a população dos fungos *Fusarium*, *Penicillium*, outros fungos, número de gêneros e população total de gêneros presentes no solo em função dos fatores F (inoculação ou não de *Fusarium* spp.) e B (bioprotetores comerciais) e sua interação.

CV	Variáveis / P < F				
	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	Outros	N. de gêneros	Total
Fus. (F)	0,38166ns	0,19943ns	0,54047ns	0,60316ns	0,10116ns
Bio. (B)	0,11336ns	0,08686ns	0,07475ns	0,26017ns	0,17596ns
A*B	0,40005ns	0,01831ns	0,12889ns	0,57670ns	0,18727ns
CV (%)	18,97	19,57	23,57	11,53	11,11

(*) Efeito significativo e (ns) não-significativo a 5% de probabilidade de erro. CV = coeficiente de variação.

Embora a severidade dos sintomas de *Fusarium* nas mudas de erva-mate tenha sido baixa, o inóculo presente era suficiente para o estabelecimento da doença, pois a população de *Fusarium* estabelecida no solo, ao final deste estudo, foi superior às encontradas nos estudos anteriores (Estudo 1 e 2).

Costa & Costa (2004) estudaram a influência da densidade de inóculo de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* na severidade da podridão-radicular-seca do feijoeiro, em diferentes tipos de solo. Os autores observaram que o estabelecimento da população de *Fusarium* variou de solo para solo, mesmo com a inoculação de quantidades iguais de inóculo. Observaram também que o índice de doença foi maior ou menor, independentemente da densidade de inóculo presente. Para um solo não-cultivado, a densidade necessária para causar a doença foi mais de 5,1 UFCs mg⁻¹ de solo, enquanto que em um solo cultivado, essa densidade foi de 3,7 UFCs mg⁻¹ de solo. Os autores ressaltam também que a simples detecção de elevadas densidades de inóculo não deve conduzir necessariamente ao prognóstico de elevadas perdas por podridões radiculares.

Nas amostras de raízes e parte aérea, colocadas em câmara úmida, observou-se que, em apenas 80% dos tratamentos inoculados, ocorreu crescimento de *Fusarium*, partindo dos tecidos internos das mudas (Apêndice 7) após seis dias de incubação. Observou-se também, diferentemente dos estudos anteriores, o desenvolvimento de *Penicillium* na maioria das amostras e, em apenas três amostras, o desenvolvimento de *Trichoderma*. Nos tratamentos sem inoculação, não houve desenvolvimento de *Fusarium*. A interação com a microbiota do solo, pode ter inibido a presença do fungo. Os demais fungos juntos corresponderam a 16% da população total, 7 UFCs mg⁻¹ de solo.

Para Mariano et al. (2005), o controle biológico é utilizado, sobretudo, com o significado de controle de um patógeno por um antagonista, envolvendo a redução da

densidade populacional do patógeno, a proteção biológica da superfície da planta e o controle dentro da planta, é dependente exclusivamente da disponibilidade e da efetividade dos agentes de controle, bem como dos produtos comerciais contendo esses microrganismos.

A introdução, no solo, de produtos comerciais de biocontrole contendo *Trichoderma*, neste estudo, não foi eficiente para o estabelecimento de uma população significativa do mesmo. O número de UFCs perfaz apenas 1,2% do total e foi encontrado em apenas seis dos 12 tratamentos inoculados. Portanto, a ação do *Trichoderma* no biocontrole de *Fusarium* foi nula.

Para Cardoso (1992), o fracasso nas tentativas de inoculação ou infestação do solo, mesmo com grande quantidade de microrganismos antagônicos, por exemplo, é atribuído ao fenômeno da homeostase, que é o princípio pelo qual um ecossistema tende a manter sua composição biótica relativamente constante. Constituem-se exceções a essa regra, os casos nos quais a adição é feita com microrganismos que apresentem uma vantagem seletiva diante da microbiota predominante no solo.

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.

Nesse contexto, podemos levantar algumas hipóteses para a falta de eficácia dos produtos biocontroladores no presente trabalho: a viabilidade dos organismos de biocontrole dos produtos utilizados poderia estar prejudicada; os organismos de biocontrole não são compatíveis com o ambiente em que foram inoculados, nem possuem a capacidade de adaptação; o pH e os nutrientes do solo, bem como a temperatura e umidade, entre outros, poderiam não ser os ideais para seu desenvolvimento; exudatos radiculares da erva-mate poderiam ter inibido o desenvolvimento dos organismos inoculados; uma única inoculação, como foi feita, poderia não ser suficiente para o estabelecimento dos organismos inoculados.

5 CONCLUSÕES

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

– A erva-mate desenvolveu-se melhor na ausência de *Fusarium* spp. e na menor dose de adubação sem calagem do solo.

– A menor severidade dos sintomas ocasionados por *Fusarium* spp. ocorreu na menor dose de adubação sem calagem.

– A calagem do solo proporcionou efeito negativo para o desenvolvimento da erva-mate.

– A população de *Fusarium* spp. no solo não foi influenciada pelos níveis de adubação e calagem.

– A população total de fungos no solo foi influenciada pelos níveis de adubação e calagem.

– O melhor desenvolvimento da erva-mate e maior resistência ao *Fusarium* spp. ocorreu nos maiores níveis de sombreamento.

– Os níveis de sombreamento influenciaram a população total de fungos no solo.

– A aplicação de bioprotetores ao solo não controlou o *Fusarium* spp.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

– Observou-se, neste estudo, que a adubação e a calagem do solo influenciam o patossistema *Fusarium*-erva-mate. Porém, são necessários, agora, estudos que observem a influência individual de cada nutriente e suas relações como forma de aumentar ou diminuir a suscetibilidade da erva-mate ao patógeno e/ou favorecer ou desfavorecer a virulência deste.

– Como o sombreamento artificial da erva-mate proporcionou efeito benéfico para o seu desenvolvimento e maior resistência ao ataque de *Fusarium*, faz-se necessário, agora, experimentos a campo, para testar diferentes formas de sombreamento do erval como, por exemplo, o consórcio com espécies florestais e qual a densidade de consórcio para se conseguir o sombreamento ideal.

– O controle biológico de *Fusarium* spp., patógeno da erva-mate, pode ser um mecanismo eficiente mediante a introdução de microrganismos antagônicos. Porém, existe uma lacuna a ser pesquisada, como quais os microrganismos a serem utilizados (antagônicos adaptados ao ambiente), bem como quantidades e formas de inoculação.

– Uma nova etapa para que se alcancem informações suficientes para recomendações técnicas sobre o manejo da podridão-de-raízes da erva-mate é a condução de experimentos a campo, para que se determine com certeza quais as técnicas que serão adotadas, dentro de um plano de manejo integrado da doença.

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, L. P. de. et al. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 83-88, 2004.

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.

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.

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.

AUER, C. G.; GRIGOLETTI Jr., A. Associação de fungos com *Ilex* spp. **Boletim de Pesquisas Florestais**, n. 45, 2002. p. 109-124.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul: Guia de Identificação e Interesse Ecológico**. 1. ed. 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**. 4th ed., Minnesota: American Phytopathology Society, 1999. 218 p.

BARROSO, D. G. et al. Diagnóstico de deficiências de macronutrientes em mudas de teca. **Revista Árvore**, v. 29, n. 5, p. 671-679, 2005.

BASSETO, M. A.; CERESINI, P. C.; VALÉRIO FILHO, W. V. Severidade da mela da soja causada por *Rhizoctonia solani* AG-1 IA em função de doses de potássio. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 56-62, 2007.

BEDENDO, I. P. Doenças Vasculares. 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.

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.

BISSANI, C. A.; ANGHINONI, I. Enxofre, cálcio e magnésio. In: BISSANI, C. A. et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênese, 2004. p. 207-220.

BLOOM, A. J. Nutrição Mineral. In: Taiz, L.; Zeiger, E. (Eds.). **Fisiologia Vegetal**, 3. ed., Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 96-103.

BORGES NETO, C. R.; GORGATI, C. Q.; PITELLI, R. A. Influência do fotoperíodo e da temperatura na intensidade de doença causada por *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *E. najas*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 252-258, 2004.

BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, I. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 2-16.

BRENA, D. A. et al. Influência da luminosidade na produção de erva-mate. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 8., Nova Prata. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2002. 1 CD-ROM.

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

BURGESS, L. W. et al. Biodiversity and population in *Fusarium*. In: LOGRIECO, K. A. A. et al. **Biodiversity of toxigenic *Fusarium* species**. Sydowia an international journal of mycology. Horn – Australia. Special Issue, 1997. p. 1-11.

CAMARGO, F. O. A.; SÁ, E. L. S. de. Nitrogênio e adubos nitrogenados. In: BISSANI, C. A. et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Gênese, 2004. p. 93-116.

CARDOSO, I. J. B. N. Ecologia microbiana do solo. In: CARDOSO, I. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 33-39.

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

CARNELUTTI FILHO, A. et al. **Testes não paramétricos para pesquisas agrícolas**. Santa Maria: UFSM/CCR/Departamento de Fitotecnia, 2001. 87 p.

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

CECONI, D. E. et al. Crescimento de mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart.) sob influência da adubação fosfatada. **Cerne**, v. 12, n. 3, p. 292-299, 2006.

CECONI, D. E.; SCHUMACHER, M. V.; BRUN, E. J. Influência de diferentes doses de fósforo no crescimento de mudas de Cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL, 9, 2003, Nova Prata-RS. **Anais...** Santa Maria: DCF, 2003. 1 CD-ROM.

CECONI, I. 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.

CIA, E.; SALGADO, C. L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, 4. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 42-52. v. 2.

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.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, 4. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 99-117. v. 2.

CORNÉLIO, V. M. de O. et al. Efeito de doses e épocas de aplicação de nitrogênio na incidência de doenças, produção e qualidade sanitária das sementes de arroz. **Ciência Agrotécnica**, v. 31, n. 1, p. 47-52, 2007.

COSTA, G. R.; COSTA, G. L. da S. Influência da densidade de inóculo de *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* na severidade da podridão radicular seca do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, n. 2, p. 89-92, 2004.

EDEL, V. et al. Populations of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. **Phytopathology**, v. 84, p. 693-697, 1997.

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

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Rio de Janeiro-RJ: **Manual e métodos de análise de solo**, 1997. 212 p.

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.

FERNANDES, L. A. Crescimento inicial, níveis críticos de fósforo e frações fosfatadas em espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1191-1198, 2000.

GARCIA JÚNIOR, D. et al. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 286-291, 2003.

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

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)

HOWELL, C. R. et al. Field control of cotton seedling diseases with *Trichoderma virens* in combination with fungicide seed. **The Journal of Cotton Science**, v. 1, p. 15-20, 1997.

HUBER, D. M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed.). **Plant pathology: an advanced treatise**. New York: Academic Press, 1980. p. 381-406. v. 5.

HUBER, D. M.; ARNY, D. C. Interactions of potassium with plant disease. In: MUNSON, R. D. (Ed.). **Potassium in agriculture**. Madison: ASA, 1985. p. 467-488.

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/paisesat>>. Acesso em: 14 de dez. 2007.

INOUE, M. T.; TORRES, D. V. Comportamento do crescimento de mudas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Ktze. em dependência da intensidade luminosa. **Revista Floresta**, v. 11, n. 1, p. 5-9, 1980.

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

KRUGNER, T. L.; AUER, C. G. Doenças dos pinheiros (*Pinus* spp.). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, 4. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 517-522. v. 2.

LIMA JUNIOR, E. de C. et al. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1092-1097, 2005.

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

LOURENÇO, R. S. et al. **Efeito do adubo NPK 20-5-20 na produtividade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil), no município de Áurea, RS**. [s. l.]: EMBRAPA, 1998. 5 p. (Comunicado Técnico, 33)

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.

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

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. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 303-322.

MARQUES, V. B. et al. Efeito de fontes e doses de nitrogênio sobre o crescimento inicial e qualidade de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth.). **Revista Árvore**, v. 30, n. 5, p. 725-735, 2006.

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

MARTINS, L. F. da S. et al. Características do sistema radicular das árvores de *Eucalyptus grandis* em resposta a aplicação de doses crescentes de bio sólido. **Scientia Florestalis**, n. 65, p. 207-218, 2004.

MAZUCHOWSKI, J. Z. **Influência de níveis de sombreamento e de nitrogênio na produção de massa foliar da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil)**. 2004, 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; MACCARI JUNIOR, A.; SILVA, E.T. da. Influência de diferentes condições de radiação solar sobre o crescimento morfológico da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3., Chapecó, 2003. **Anais...** Chapecó: EPAGRI, 2003. 1 CD-ROM.

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

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.

MENEZES, J. P. ***Trichoderma* spp. como bioprotetor de crisântemo e reação de cultivares de crisântemo a *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi***. 2003, 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

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

MICHEREFF, S. J.; ABDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M. Inóculo de patógenos radiculares. In: MICHEREFF, S. J.; ABDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 93-124.

MISSIO, E. L.; NICOLOSO, F. T. Distúrbios nutricionais induzidos pela adubação de fósforo e ferro em plantas jovens de grápia (*Apuleia leiocarpa*). **Ciência Florestal**, v. 15, n. 4, p. 377-389, 2005.

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.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. Philadelphia: Pennsylvania State University Press, 1983. 193 p.

NEVES, M. C. P. C. Como os microrganismos do solo obtêm energia e nutrientes. In: CARDOSO, I. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 17-32.

NICOLOSO, F. T. et al. Nutrição mineral de mudas de grápia (*Apuleia leiocarpa*) em Argissolo Vermelho Distrófico arênico: Efeito da adubação NPK no crescimento. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1-8, 2001.

PANDOLFO, C. M. et al. Resposta da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) à adubação mineral e orgânica em um latossolo vermelho aluminoférrico. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 2, p. 37-45, 2003.

POLETTO, 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.

POLETTO, I. et al. Caracterização dos ervais com podridão-de-raízes na região do Vale do Taquari-RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 39., 2006, Salvador. **Anais...** Salvador: Fitopatologia Brasileira/SBF, 2006b. p. 149. v. 31 (Suplemento)

POLETTO, 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, 2006c. p. 149. v. 31 (Suplemento)

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, 2005a. p. 126-132.

POLETTI, I.; MUNIZ, M. F. B.; CECONI, D. E. Análise da qualidade sanitária de sementes de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. em processo de estratificação In: SIMPÓSIO BRASIL – ALEMANHA 2., 2005, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM/UNISC, 2005b, p. 287.

POZZA, A. A. A. et al. Efeito do tipo de substrato e da presença de adubação suplementar sobre o crescimento vegetativo, nutrição mineral, custo de produção e intensidade de cercosporiose em mudas de cafeeiro formadas em tubetes. **Ciência agrotécnica**, v. 31, n. 3, p. 685-692, 2007.

POZZA, A. A. A. et al. Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 1, p. 53-60, 2001.

POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A. Manejo de doenças de plantas com macro e micronutrientes. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia 36., 2003, Uberlândia. **Anais...** Brasília: Fitopatologia Brasileira/SBF, 2003. p. 52-53. v. 28. (Suplemento)

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

RAHMAN, M.; PUNJA, Z. K. Calcium and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Paul-USA: APS, 2007. p. 79-93.

REIS, M. G. F.; et al. Acúmulo de biomassa em uma seqüência de idade de *Eucalyptus grandis* plantado no cerrado em duas áreas com diferentes produtividades. **Revista Árvore**, v. 9, n. 2, p. 149-162, 1985.

REISSMANN, C. B.; CARNEIRO, C. Crescimento e composição química de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil), transcorridos oito anos de calagem. **Floresta**, v. 34, n. 3, p. 381-386, 2004.

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.

RODRIGUES, F. de Á.; CARVALHO, E. M.; VALE, F. X. R. do. Severidade da podridão-radicular de *Rhizoctonia* do feijoeiro influenciada pela calagem, e pelas fontes e doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1247-1252, 2002.

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

SAREMI, H.; BURGESS, L. W.; BACKHOUSE, D. Temperature effects on the relative abundance of *Fusarium* species in a model plant-soil ecosystem. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p. 941-47, 1999.

SCALON, S. de P. Q. et al. Desenvolvimento de mudas de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) sob condições de sombreamento. **Ciência Agrotécnica**, v. 30, n. 1, p. 166-169, 2006.

SCHUMACHER, M. V.; CECONI, D. E.; SANTANA, C. A. Influência de diferentes doses de fósforo no crescimento de mudas de Angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan). **Revista árvore**, v. 28, n. 1, p. 149-155, 2004.

SEREDA, F. et al. Sintomatologia de carência e avaliação do desenvolvimento de mudas de *Maytenus ilicifolia* cultivadas em casa de vegetação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31., 2007, Gramado. **Anais...** Gramado: SBCS, 2007. 1 CD-ROM.

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.

SOUSA, P. A. de; VENTURIN, N.; MACEDO, R. L. G. de; Adubação mineral do ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*). **Ciência Florestal**, v. 16, n. 3, p. 261-270, 2006.

STAMFORD, N. P. et al. Microbiota dos solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ABDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, 2005. p. 61-92.

STORK, L. Precisão experimental em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, v. 12, n. 1, p. 159-161, 2002.

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

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

TSAI, S. M.; BARAIBAR, A. V. L.; ROMANI, V. L. M. Efeito dos fatores do solo. In: CARDOSO, I. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. p. 59-58.

VENTURA J. A.; Taxonomia de *Fusarium* e seus segredos. Parte II - Chaves para identificação. In: LUZ, W. C da (ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 8, 2000. p. 303-338.

VENTURA, J. A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados: Parte I - História, meios e procedimentos de cultivo. In: LUZ, W. C da (ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 7, 1999. p. 271-297.

VOGEL, H. L. M. et al. Efeito de diferentes doses de fósforo no crescimento de plantas de *Mimosa scabrella* Bentham (Bracatinga). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 28, 2001, Londrina-PR. **Anais...** Londrina: SBCS, 2001. p. 149.

WOLLUM, A. G. Introduction and historical perspective. In: SYLVIA, D. M. et al. **Principles and applications of soil microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. p. 3-20.

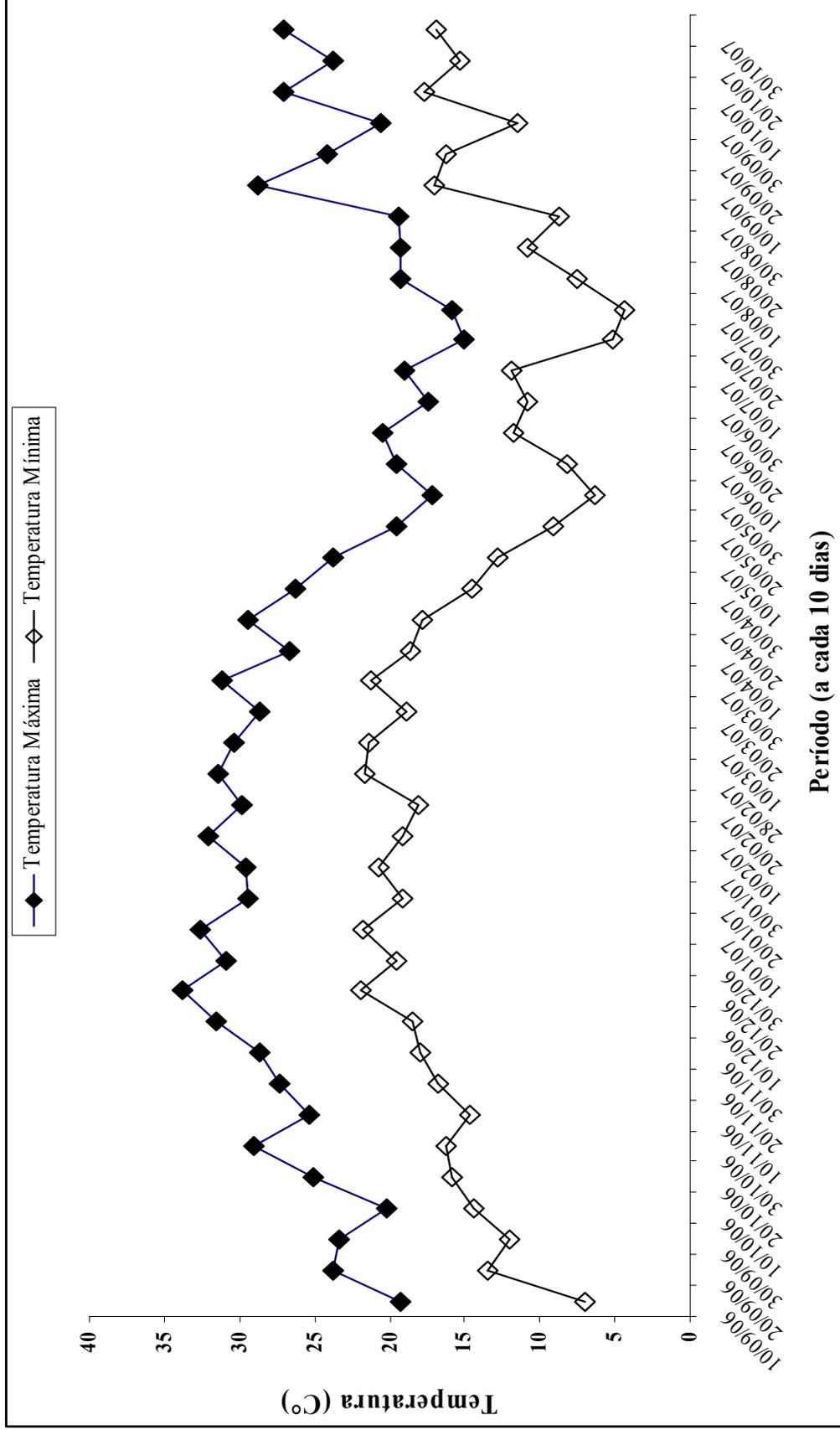
ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F. X. R. do. Efeito da nutrição mineral sobre doenças de plantas causadas por patógenos de solo. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: UFV, 2001. p. 347-403.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**, 4. ed., São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 165-180. v. 2.

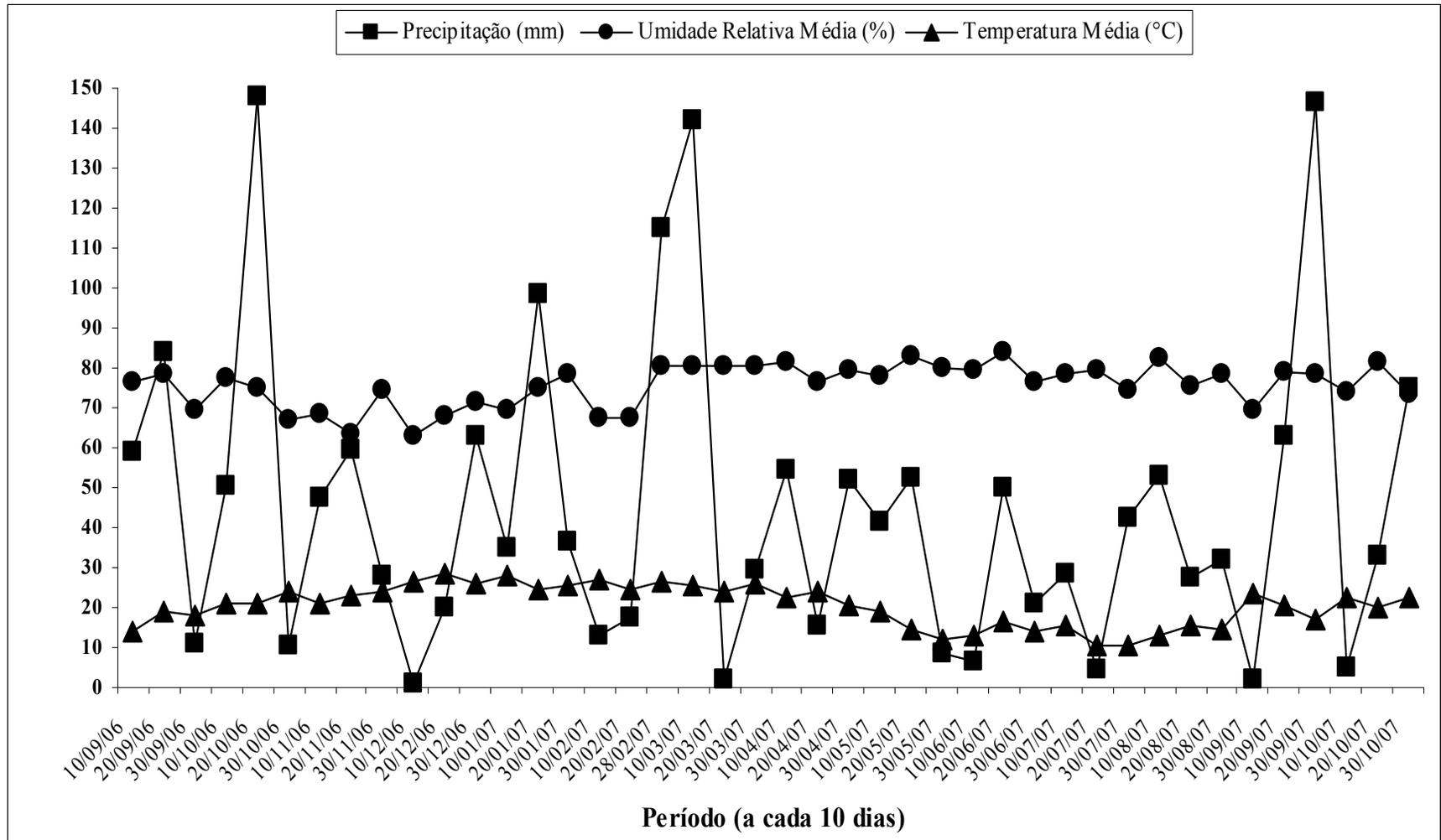
ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. In: LUZ, W. C da (ed). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 1, 1993. p. 275-318.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. D.; SILVEIRA JUNIOR, P. **Sistema de análise estatística para microcomputadores: SANEST**. Pelotas: UFPEL, 1984. (Registro SEI n. 06606-0 categoria AO).

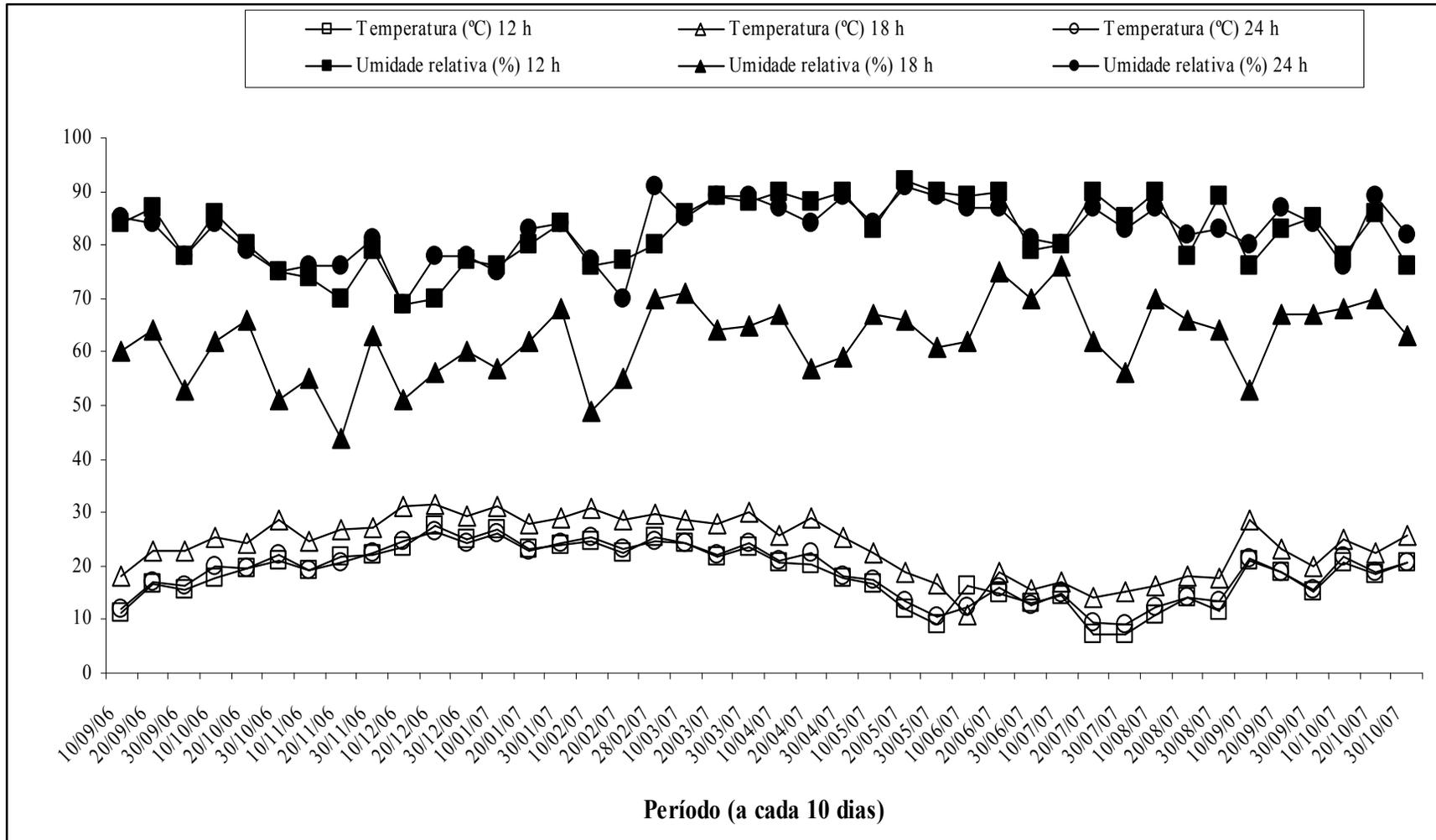
APÊNDICES



Apêndice 1 – Temperaturas máximas e mínimas (°C), observadas de 10 em 10 dias, durante o período de desenvolvimento do estudo. Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.



Apêndice 2 – Precipitação Pluviométrica (mm), Umidade Relativa Média (%) e Temperatura Média (°C), observadas de 10 em 10 dias, durante o período de desenvolvimento do estudo. **Fonte:** Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.



Apêndice 3 – Temperatura (°C) e Umidade Relativa (%) nos horários 12, 18 e 24 horas, observadas de 10 em 10 dias, durante o período de desenvolvimento do estudo.
Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS.



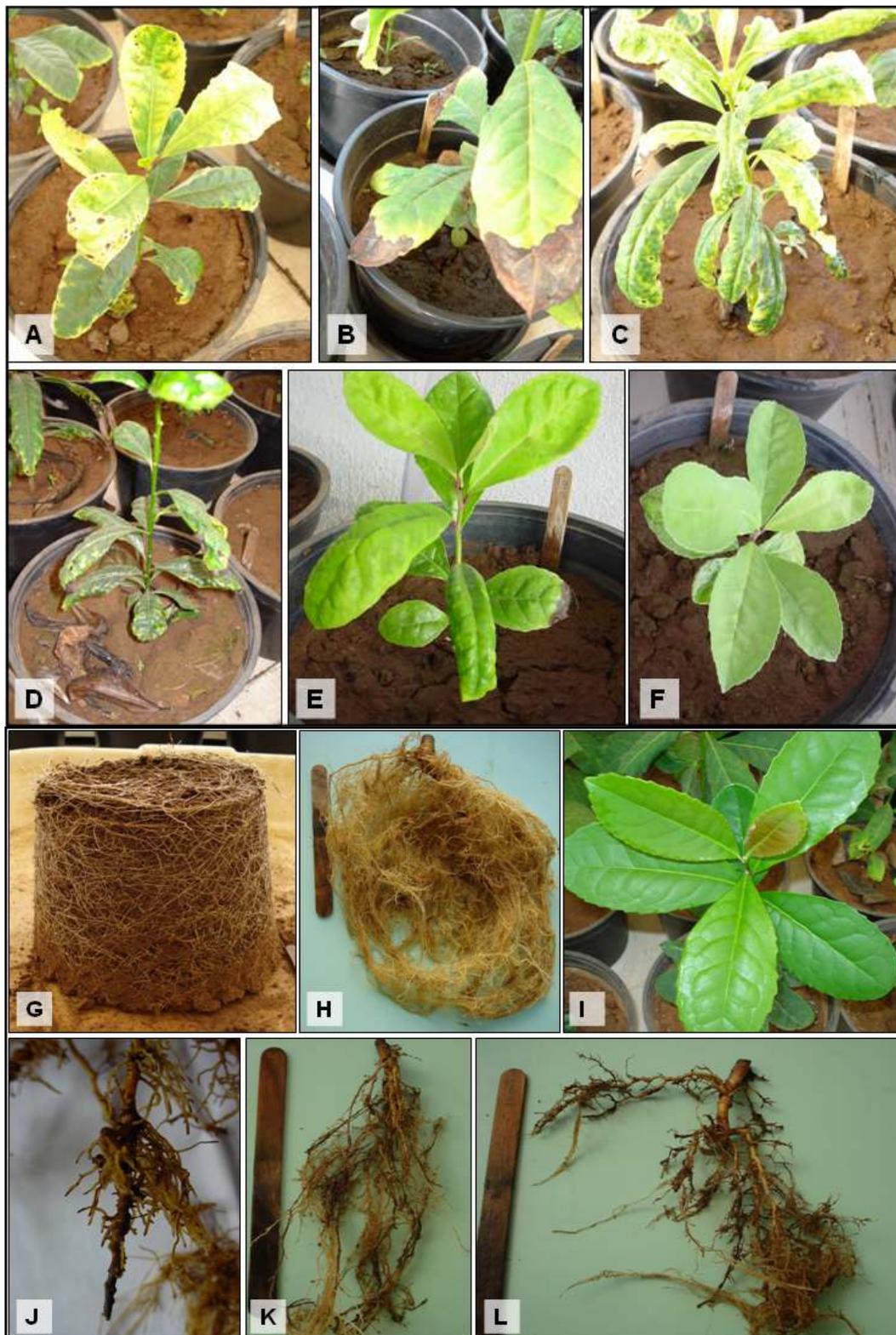
Apêndice 4 – Experimento com níveis de sombreamento (Estudo 2). Plantas de erva-mate submetidas a 95% de sombreamento (sadias) (A) e a pleno sol apresentando clorose, necrose e queda de folhas (B); (C) disposição das plantas dentro das capelas, 1- não inoculadas e sadias, 2- inoculadas com *Fusarium* spp. e apresentando clorose; (D) aspecto geral do experimento.

Apêndice 5 – Descrição dos produtos comerciais de biocontrole.

BIOTRICH[®] trata-se de um formulado biológico à base de *Trichoderma* spp., podendo ser utilizado incorporado ao solo p.p. (pré-plantio) ou em suspensão, pulverizado ou regado, sobre canteiros, gramados, etc. Sua ação é basicamente preventiva, age sobre fungos fitopatogênicos presentes naturalmente no solo como: *Rizoctonia*, *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Phyitium*, *Phomopsis* e *Rosilinia*. Atua por mais de um mecanismo sendo um deles penetrar e depois colonizar as raízes das plantas, desta maneira protegendo e estimulando o desenvolvimento de frutíferas, flores, hortaliças, gramados e jardins. A dosagem recomendada é de 2 g m⁻², equivalente a 20 kg ha⁻¹, devendo ser incorporado ao solo. Essa aplicação pode ser realizada juntamente com o adubo de plantio ou pulverizado sobre o solo com posterior rega, para que o BIOTRICH[®] atinja as camadas mais profundas. Informações obtidas no site: www.qualifertil.com.br.

BACSOL[®] trata-se de um composto que contém uma gama de microrganismos, classificados como rizosféricos, decompositores, nitrogenadores e parasitas. Esses microrganismos estão na forma de esporos, entrando em intensa multiplicação quando em contato com a umidade do solo. O uso de BACSOL[®] tem o propósito de introduzir no sistema produtivo (ecossistema) microrganismos de grande importância econômica, ativando uma série de transformações fundamentais para o bom desenvolvimento da planta e conservação das propriedades desejáveis ao solo. Os microrganismos do BACSOL[®] atuam como inimigos naturais dos nematóides, fungos e bactérias malélicas (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, etc.). Além disso, os microrganismos do BACSOL[®] quebram o ciclo das doenças que possuem ciclo de vida no solo (*Botrytis*), reduzindo seu potencial. Informações adquiridas com o fornecedor do produto.

AGROTRICH[®] trata-se de um composto biológico composto pelo fungo *Trichoderma* sp. na quantidade de 10⁶ 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.



Apêndice 6 – Exemplos dos sintomas observados nas plantas de erva-mate e notas atribuídas ao grau de severidade de cada um: (A) clorose (nota 4) e necrose (nota 1); (B) clorose (nota 2) seguida de necrose (nota 3); (C) clorose (nota 5), necrose (nota 2) e encarquilhamento (nota 5); (D) queda de folhas (nota 2), clorose (nota 4) e necrose (nota 3); (E) amarelecimento (nota 4); (F) estagnação do crescimento (nota 4) e amarelecimento (nota 4); (G, H e I) muda sadia, tratamento COA1 (nota 0), (G) torrão de solo tomado pelas raízes, (H) raízes lavadas e sadias, (I) muda sadia; (J, K e L) detalhes do sistema radicular com necrose (nota 5).



Apêndice 7 – Desenvolvimento de *Fusarium* nas amostras da parte aérea (A) e raízes (aumento 4 x) (B).