

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**COMUNIDADES FÚNGICAS ENDOFÍTICA, EPIFÍTICA E RIZOSFÉRICA EM
DIFERENTES ECOSISTEMAS**

Marcia Eloisa da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Aida Terezinha Santos Matsumura

**Tese apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Doutor em Ciências**

**Porto Alegre, RS, Brasil
Março de 2006**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente tornaram possível a realização desse trabalho, e em especial:

À professora Aida Terezinha Santos Matsumura, por sua orientação, amizade e constante estímulo. Foi um privilégio desenvolver esse trabalho sob sua orientação e integrar seu grupo de pesquisa.

Aos professores do curso, pela transmissão de seus valiosos conhecimentos.

Ao Departamento de Fitossanidade da UFRGS, na pessoa do professor Valmir Duarte, por possibilitar a utilização de Laboratórios desse Departamento.

À amiga Isabel Padula Paz, pela versão do resumo, sugestões na análise estatística e incentivo constante.

Aos colegas de Laboratório Marcus André Kurtz Almança, Juliana Pandolfo e Rita de Cássia Santini, pela amizade e colaboração na execução desse trabalho.

Ao amigo Cristian André Prade, pelo incentivo e sugestões apresentadas.

Ao amigo Tiago De Marchi, pela identificação das plantas da mata natural da área de estudo.

Ao Engenheiro Agrônomo, Ernesto Benetti pela identificação das ervas-daninhas da área de estudo.

À empresa Universal Leaf Tabacos Ltda., e em especial aos biólogos Cláudio Vidal de Medeiros e Carine Naue, e também a Dra. Andrea Rocha, pelo apoio recebido durante a realização desse trabalho.

Ao instrutor João Fornari da Universal Leaf Tabacos Ltda. (Filial Venâncio Aires), pelo auxílio e boa vontade durante as coletas do material.

Ao Sr. Fábio José Hickmann, por disponibilizar sua propriedade para as coletas do material.

Aos meus sobrinhos Thiago, Matheus e Amanda, pelo carinho e amizade indispensáveis.

À amiga Elena Diehl, pela sua dedicação e estímulo durante todos esses anos de convívio.

À Neila S. Richards, pela amizade e incentivo.

Aos amigos Daniel Pereira e Fernando Inácio dos Santos, pelo incentivo e sugestões no início desse trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Botânica da UFRGS, pela oportunidade.

COMUNIDADES FÚNGICAS ENDOFÍTICA, EPIFÍTICA E RIZOSFÉRICA EM DIFERENTES ECOSISTEMAS¹

Autora: Márcia Eloísa da Silva

Orientadora: Aida Terezinha Santos Matsumura

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de três ecossistemas sobre, a ocorrência de fungos rizosféricos, endofíticos e epifíticos. As áreas de estudo estão localizadas em uma propriedade rural, situada na cidade de Venâncio Aires, RS. Os fungos endofíticos e epifíticos foram isolados de amostras de raízes de guajuvira, (*Patagonula americana* L.), coletadas na mata (área 1), de uva-do-japão (*Hovenia dulcis* Thunb.), na área intermediária (área 2) e de fumo ou de milho, na lavoura (área 3) e, os fungos rizosféricos isolados de solo coletado junto as raízes dos vegetais citados. As amostras foram coletadas nos meses de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Os fungos foram identificados segundo características morfológicas com auxílio de chaves de identificação. As áreas 2 e 3 foram mais similares com relação aos fungos rizosféricos e epifíticos, enquanto, que, as áreas 1 e 2 foram mais similares com relação aos fungos endofíticos. A diversidade dos fungos isolados das três áreas não diferiu ao longo dos dois anos de coleta. A presença de *Fusarium* spp., em vegetais sem sintomas de doença indica que, as mesmas podem ser raças avirulentas ou patógenos latentes em equilíbrio com o hospedeiro e o ambiente. A presença de fungos antagonistas, principalmente *Trichoderma* spp. também, são responsáveis por esse equilíbrio, o qual ocorre nas três áreas.

Palavra-Chaves: fungos endofíticos, fungos epifíticos, ecologia microbiana.

¹ Tese de Doutorado em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, (86 p.) Março de 2006.

ENDOPHYTIC, EPIPHYTIC AND RHIZOSPHERIC FUNGI COMMUNITIES IN DIFFERENT ECOSYSTEMS ¹

Author: Marcia Eloisa da Silva
Adviser: Aida Terezinha Santos Matsumura

ABSTRACT

The present paper aimed at assessing the effect of three ecosystems, on the occurrence of rhizospheric, endophytic and epiphytic fungi. The study areas are located in a farm in Venâncio Aires, Rio Grande do Sul. Samples were collected in the months of January, May, September and November 2004 and 2005. The endophytic and epiphytic fungi were isolated from samples of guajayvi roots (*Patagonula americana* L.), picked in the forest (area 1), of Japanese raisin tree (*Hovenia dulcis* Thunb.), in the intermediate area (area 2), and tobacco or corn, in the cultivated area (area 3) and rhizospheric fungi isolated from soil. The fungi were identified according to morphological characteristics, with the help of identification keys. Areas 2 and 3 were more alike concerning rhizospheric and epiphytic fungi; Areas 1 and 2, in turn, were more alike concerning endophytic fungi. The diversity of the isolated fungi from these three areas did not change during the two years of collection. The abundance of fungi with phytopathogenic potential such as the *Fusarium* spp. and *Macrophomina phaseolina*, mostly as endophytic in area 3 shows the influence of the host on them. The presence of antagonistic fungi, principally *Trichoderma* spp. also, are responsible for this equilibrium, which occurred in the three areas.

Keywords: endophytic fungi, epiphytic fungi and microbial ecology

¹ Doctor Science thesis in Botany Post-Graduation Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, (86 p.) March de 2006.

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I	
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Solo	4
2.1.1. Interações na rizosfera	9
2.2. Interação fungo/planta	13
2.3. Fumo (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)	19
2.3.1. Doenças fúngicas em fumo	20
2.3.2. Controle	21
CAPÍTULO II	
3. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETAS	23
CAPÍTULO III	
4. OCORRÊNCIA DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS EM TRÊS COMUNIDADES VEGETAIS	26
4.1. Introdução	26
4.2. Material e Métodos	30
4.2.1. Local de coleta	30
4.2.2. Amostragem	32
4.2.3. Isolamento de fungos filamentosos de solo rizosférico	32
4.2.4. Identificação dos fungos	33
4.2.5. Análises físico-químicas de solo	33
4.2.6. Análise dos dados	33
4.3. Resultados e Discussão	34
4.3.1. Diversidade dos fungos	39
4.3.2. Correlação entre fungos e variáveis abióticas	43
4.3.3. Análises físico-químicas	44
4.4. Considerações finais	45

CAPÍTULO IV

5. COMUNIDADES FÚNGICAS ENDOFÍTICA E EPIFÍTICA EM TRÊS ECOSSISTEMAS	47
5.1. Introdução	47
5.1.1. Fumo (<i>Nicotiana tabacum</i> L.)	49
5.1.2. Doenças causadas por fungos e oomicetos em fumo	49
5.2. Material e Métodos	50
5.2.1. Local de coleta	50
5.2.2. Amostragem	52
5.2.3. Isolamento de fungos endofíticos e epifíticos de raízes	52
5.2.4. Identificação dos fungos	53
5.2.5. Análise dos dados	53
5.3. Resultados e Discussão	54
5.3.1. Fungos endofíticos	56
5.3.2. Fungos epifíticos	59
5.3.3. Diversidade dos fungos endofíticos	64
5.3.4. Diversidade dos fungos epifíticos	64
5.3.5. Interação com fatores abióticos do solo	69
5.4. Considerações finais	70
6. CONCLUSÃO	72
7. SUGESTÕES	73
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
9. APÊNDICES	81

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Lista florística da área 1 (mata natural). Venâncio Aires, RS. 2005	24
2. Fungos rizosféricos isolados de amostras coletadas nas áreas, A1 (mata natural), A2 (intermediária) e A3 (lavoura), durante os anos de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS	35
3. Fungos de solo rizosférico coletados nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004 e 2005	36
4. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como endofíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária) e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2004.	40
5. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como endofíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária) e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2005.	40
6. Comparação entre as áreas segundo o índice de diversidade de Shannon para os fungos de solo rizosférico, isolados nas três áreas (mata, área intermediária e lavoura) nos anos de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.	41
7. Frequência absoluta de fungos de solo rizosférico de maior ocorrência nas áreas A1 (mata), A2 (intermediária) e A3 (lavoura) isolados das coletas de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS	41
8. Fungos endofíticos e epifíticos isolados de raízes coletadas nas áreas, A1 (mata natural), A2 (intermediária) e A3 (lavoura), durante os anos de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.	55
9. Fungos endofíticos isolados das coletados nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004	

e 2005. Venâncio Aires, RS	57
10. Fungos epifíticos coletados nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004 e 2005.....	60
11. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como endofíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2004.	65
12. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como endofíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2005.	65
13. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como epifíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2004.	66
14. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como epifíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2005.	66
15. Comparação entre as áreas segundo o índice de diversidade de Shannon para os fungos endofíticos e epifíticos isolados nas três áreas (mata, área intermediária e lavoura) nos anos de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS	67
16. Frequência absoluta de fungos endofíticos de maior ocorrência nas áreas A1 (mata), A2 (intermediária e A3 (lavoura) isolados das coletas de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS	68
17. Frequência absoluta de fungos epifíticos de maior ocorrência nas áreas A1 (mata), A2 (intermediária e A3 (lavoura) isolados das coletas de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS.....	69

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Dendrograma obtido da análise de agrupamento hierárquico (ligação média entre grupos) utilizando as variáveis fungos rizosféricos, isolados das áreas: A1 (mata natural), A2 (Intermediária) e A3 (lavoura) a partir das coletas de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Distância Euclidiana.	38
2 Dendrograma obtido da análise de agrupamento hierárquico (ligação média entre grupos) utilizando as variáveis fungos endofíticos, isolados das áreas: A1 (mata natural), A2 (Intermediária) e A3 (lavoura) a partir das coletas de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Distância Euclidiana.	58
3 Dendrograma obtido da análise de agrupamento hierárquico (ligação média entre grupos) utilizando as variáveis fungos epifíticos, isolados das áreas: A1 (mata natural), A2 (Intermediária) e A3 (lavoura) a partir das coletas de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Distância Euclidiana.	61

RELAÇÃO DE APÊNDICES

		Página
1.	Análises Físico-químicas das amostras de solo rizosférico coletadas nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004. Venâncio Aires, RS	82
2.	Análises Físico-químicas das amostras de solo rizosférico coletadas nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2005. Venâncio Aires, RS	83
3.	Coeficientes de correlação de Pearson entre a ocorrência de fungos rizosféricos e umidade (U) pH, matéria orgânica (MO), Carbono (C) fósforo (P), potássio (K) e cálcio (Ca) do solo das três áreas de coleta. Venâncio Aires, RS	84
4.	Coeficientes de correlação de Pearson entre a ocorrência de fungos endofíticos pH, matéria orgânica (MO), Carbono (C) fósforo (P) e potássio (K) do solo das três áreas de coleta. Venâncio Aires, RS	85
5.	Coeficientes de correlação de Pearson entre a ocorrência de fungos epifíticos pH, fósforo (P), potássio (K) e cálcio (Ca) do solo das três áreas de coleta. Venâncio Aires, RS	85
6.	Precipitação pluviométrica e temperaturas médias da região em 2003, 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS	86

1. INTRODUÇÃO

A produção agrícola convencional tem contribuído em muito com o desequilíbrio dos ecossistemas agrícolas e naturais, o intenso desmatamento para a implantação de lavouras, os fertilizantes sintéticos, os pesticidas utilizados vêm causando problemas à fauna, à flora, às fontes naturais de água e basicamente ao solo.

O solo, por sua vez é o habitat de grande diversidade de microrganismos, responsáveis por inúmeras funções, que vão desde a decomposição da matéria orgânica, liberando nutrientes, a mineralização, a solubilização e disponibilização de macro e micronutrientes aos vegetais. Muitos microrganismos habitantes do solo são de vida livre e podem interagir na superfície de vegetais, principalmente das raízes. Interações como o comensalismo, com eles utilizando exsudados liberados pelas plantas. Podem ainda, ser simbioses facultativos ou obrigatórios. A interação de simbiose pode ser mutualística, onde ambos associados se beneficiam ou parasitária, onde o parasita vive às custas do hospedeiro. Existem várias pesquisas sobre interações entre microrganismos e plantas, como as bactérias fixadoras de nitrogênio e as leguminosas, as micorrizas, a interação entre patógenos e plantas, entre microrganismos endofíticos e plantas, muito ainda há por fazer.

Estudos sobre ecossistemas naturais podem auxiliar no entendimento dos ecossistemas agrícolas e a interações que ocorrem nos mesmos. A comparação entre a diversidade de microrganismos entre esses ecossistemas pode fornecer uma indicação da quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis, de alterações nos fatores bióticos e abióticos que possam levar a um desequilíbrio favorecendo a instalação de doenças.

Os fungos com potencial fitopatogênico e os antagonistas são encontrados praticamente em todos os solos naturais e agrícolas. Estudos sobre a ocorrência e distribuição desses microrganismos no solo e a interação dos mesmos com as plantas e o

ambiente vão auxiliar no monitoramento das condições ecológicas do sistema que está sendo avaliado.

Segundo Bergamin Filho (1995), fitopatossistema é um subsistema de um ecossistema caracterizado pelo parasitismo, onde o hospedeiro é uma planta. Os fitopatossistemas dividem-se em: selvagem (patossistema vegetal selvagem), ou seja, sem a ação do homem e fitopatossistema agrícola (patossistema vegetal agrícola), com a interferência do homem. Para o autor, o fitopatossistema selvagem é estável e autônomo, já o fitopatossistema agrícola é um sistema quase sempre estável, porém nunca autônomo. Os atributos do hospedeiro, do patógeno e do ambiente são responsáveis pelo equilíbrio dinâmico dos referidos sistemas.

Embora existam vários estudos sobre fitopatossistemas agrícolas, os mesmos estão direcionados basicamente a determinadas culturas, visando o controle imediato dos fitopatógenos. Poucas são as pesquisas que buscam verificar se realmente determinados patógenos podem agir com maior ou menor intensidade nos diferentes ecossistemas e se a diversidade dos mesmos pode realmente ser alterada em função de modificações introduzidas no ambiente.

O presente trabalho teve por finalidade verificar se diferentes ecossistemas podem interferir sobre a diversidade de fungos rizosféricos, endofíticos e epifíticos e se esta interferência pode modificar a atuação de determinados fungos sobre os vegetais das áreas estudadas, isto é, verificar se ocorre diferenças significativas entre os ecossistemas selvagens e os ecossistemas agrícolas estudados. Para tanto, foram formuladas as seguintes hipóteses:

a) Áreas de agricultura intensiva favorecem a ocorrência de fungos fitopatogênicos.

b) A frequência dos fungos rizosféricos, endofíticos e epifíticos difere com relação às áreas analisadas dentro de uma mesma localidade.

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes ecossistemas (área de produção agrícola, área de influência humana moderada ou reduzida e área natural) sobre a ocorrência de fungos rizosféricos, endofíticos e epifíticos. E os objetivos específicos foram:

Estudar os fungos de solo rizosférico e de fragmentos de raízes das áreas de estudo.

Verificar se as características físico-químicas do solo das diferentes áreas interferem na diversidade dos fungos encontrados nas mesmas.

Comparar os resultados obtidos nas diferentes áreas com a finalidade de aceitar ou rejeitar as hipóteses, acima formuladas.

CAPÍTULO I

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo Bedendo (1995), doenças vegetais caracterizam-se pela interação entre o hospedeiro (planta suscetível), o patógeno e o ambiente. Fatores ambientais como clima (umidade, temperatura, luz e vento), solo (nutrientes, pH) podem predispor plantas a ação de patógenos. Tanto os macro como os micronutrientes podem influenciar na interação. Excesso de nitrogênio pode favorecer o patógeno devido ao aumento da suculência em tecidos e prolongar o período vegetativo. A deficiência do nitrogênio faz com que a planta se torne menos vigorosa e mais suscetível a doenças. A forma de utilização do nitrogênio (amônio ou nitrato) pode favorecer certos patógenos e ainda pode interagir com o pH do solo, fazendo com que certas doenças em solo com nitrogênio amoniacal e pH ácido tornem-se mais severas, enquanto que outras doenças são mais favorecidas em solo com nitrogênio sob a forma de nitrato e pH neutro a alcalino. O fósforo pode aumentar ou diminuir a severidade da doença, conforme a planta e o patógeno envolvidos, já o excesso de potássio desfavorece a doença. O pH ácido favorece as doenças causadas por fungos, já o pH neutro ou levemente alcalino, favorece as doenças bacterianas.

2.1. Solo

Conforme Giller et al (1997), o solo é o habitat das plantas e de uma grande variedade de bactérias, fungos, protozoários e animais invertebrados, os quais contribuem para a manutenção da produtividade nos agroecossistemas. A agricultura intensiva vem reduzindo drasticamente a biodiversidade no solo.

Segundo Kennedy & Gewin (1997), o papel dos microrganismos nas comunidades do solo é extremamente diverso. Funções como decomposição de matéria orgânica, ciclagem dos nutrientes, interações como micorrizas e rizóbio-

leguminosas, são mais pesquisadas do que a interação entre microrganismos patogênicos e plantas.

Conforme Abawi & Widmer (2000), as características de um solo pobre como a alta compactação, a drenagem inadequada, o baixo teor de matéria orgânica e a baixa fertilidade aumentam a população de fungos causadores de doenças em raízes como *Fusarium*, *Pythium* e *Rhizoctonia*. Os autores citam ainda a necessidade de um manejo adequado, utilizando práticas culturais que melhorem às condições físicas e aumentem a diversidade da biota do solo como alternativa para redução da incidência de fitopatógenos.

Para Pankhurst et al. (1996), embora a produtividade de sistemas agrícolas dependa da atividade dos microrganismos do solo, a biodiversidade das comunidades microbianas do solo e seu efeito sobre a estabilidade de sistemas agrícolas são praticamente desconhecidos. Segundo os autores, as dificuldades referem-se à definição de grupos taxonômicos adequados e também devido à dificuldade de cultivo de muitos microrganismos, pesquisas sobre sucessão ecológica, decomposição de matéria orgânica, associadas a fatores abióticos do solo e efeitos regionais, incluindo as práticas de manejo agrícola, devem ser consideradas quando se estuda a diversidade de comunidades microbianas.

Segundo Bridge e Spooner (2001) a grande maioria dos fungos, mais de 80000, espécies vivem no solo. São encontrados atuando ativamente na degradação de material vegetal morto, ou sob a forma inativa, como propágulos, ou em estágios latentes presentes no solo. O conhecimento da diversidade no solo está baseado em observação dos corpos de frutificação presentes no ambiente ou de culturas obtidas a partir de isolamento do solo. Existem limitações para detectar a verdadeira diversidade do ambiente escolhido, pois alguns existem somente na forma micelial no solo não sendo identificados, por falta dos corpos de frutificação. Apenas 17% das espécies são cultiváveis em meios comuns. Portanto, o método clássico de observação direta em microscopia e cultivo em placas podem levar a redução na medida da verdadeira diversidade no ambiente.

Vijaykumar & Narasimhain (1995) avaliaram o efeito da sazonalidade sobre a população de bactérias e fungos de solo com relação às condições físico-químicas, num período de 12 meses. A população de fungos foi maior no mês de fevereiro e a de bactérias foi maior no mês de outubro. Encontraram correlação positiva entre a população de fungos e a umidade do solo, a quantidade de carbono orgânico e de

fósforo disponível. Ao todo 45 espécies de fungos foram isoladas. Os mais representativos foram *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Mycothecium* sp., *Penicillium* sp. e *Phoma* sp.

Raymundo Jr. & Tauk-Tornisielo (1997) isolaram fungos filamentosos e actinomicetos em solo de cerrado. Os autores verificaram a relação entre profundidade, umidade, matéria orgânica, pH do solo e fatores climáticos sobre a quantidade dos microrganismos. Os fungos filamentosos foram mais abundantes na profundidade de 0-5 cm, já os actinomicetos entre 5 e 50 cm de profundidade. Para os autores, a concentração de microrganismos obtidos para as diferentes profundidades mostrou a importância da camada mais superficial (5 cm) para os fungos filamentosos, na qual existe um alto teor de matéria orgânica.

Adler & Lew (1995) verificaram a distribuição de espécies de *Fusarium* ao longo de um gradiente de altitude em solos não cultivados, os quais se estendiam de uma zona desértica subtropical próxima do nível do mar, passando por uma zona temperada até uma zona desértica subalpina em torno de 2.300 m em Tenefife, comparando-os com solos cultivados de Lanzarote e Palma, e dois outros das Ilhas Canárias. Dos 5.493 isolados de *Fusarium*, foram identificadas 17 espécies e uma população não descrita. As espécies mais representativas foram *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani*, *F. brachygibbosum* e *F. flocciferum*. Os fungos *F. oxysporum* e *F. solani* ocorreram com maior frequência em solos cultivados do que em solos não perturbados, o inverso ocorreu com *F. brachygibbosum*. A espécie *F. oxysporum* foi a mais frequente nos solos pesquisados e com maior variabilidade em relação a fatores climáticos. *F. solani*, *F. equiseti* e *F. brachygibbosum* foram isolados de solos de zonas subtropical e temperados. As espécies *F. equiseti* e *F. brachygibbosum* predominaram em locais com menor incidência de chuvas e *F. solani* foi mais frequente em áreas úmidas ou irrigadas. Já *F. flocciferum*, *F. acuminatum* e *F. arthrosporioides* predominaram em solos mais secos em zonas temperadas.

Ulacio et al. (1997) verificaram a microbiota de raízes, rizoplano, rizosfera e solo em plantas de fumo adultas, provenientes de duas áreas distintas na Venezuela. Isolaram alta proporção de colônias de *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. roseum*, predominando *F. solani*, principalmente, do rizoplano de ambas as áreas. Também várias espécies de *Aspergillus* presente na rizosfera e rizoplano de ambas as áreas *A. niger*, *A. ustus*, *A. terreus*, *A. flavus*. Os fungos *Sclerotium rolfsii* e *F. oxysporum* foram isolados das raízes enfermas provenientes de uma das áreas. Segundo os

autores *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. têm alta capacidade de colonização da rizosfera e que as estruturas de reprodução dos mesmos são abundantes no solo.

Conforme Kornilowicz-kowalska et al. (2000), o processo de colonização dos resíduos de tabaco por fungos de solo envolve sucessão de diferentes grupos fisiológicos, porém pouca diversidade, predominando formas potencialmente fitopatogênicas. Os autores testaram a introdução de material com resíduos de horticultura em solo e de material com resíduos de tabaco. No solo onde foram adicionados os resíduos de horticultura houve maior diversidade de fungos e no solo com introdução de resíduos da cultura de tabaco, nas primeiras cinco semanas predominaram fungos degradadores de açúcares simples como *Mucor*. Após este período houve um aumento de fungos do gênero *Fusarium*. Os resíduos de tabaco foram colonizados por *Mucor ramonissimus*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. redolens* e *Geotrichum candidum*, os quais exceto o *M. ramonissimus*, não foram comuns nos restos de horticultura.

Purohit et al. (2002) relataram que os diferentes grupos funcionais que compõem as comunidades microbianas do solo são responsáveis pela produtividade e a saúde dos sistemas agrícolas. Os autores avaliaram durante dois anos o efeito de duas áreas em zona árida da Índia sobre a população fúngica do solo. Eles constataram que a biomassa fúngica foi significativamente maior em áreas com árvores de *Prosopis cineraria* do que em áreas descobertas.

Para Brodie et al. (2003), o manejo de solos ácidos cultivados com pastagens tem aumentado. Práticas que levam a diminuição da diversidade florística com uma troca de espécies ricas de pastagens semi-naturais para espécies pobres de comunidades dominadas principalmente por plantas perenes como azevém (*Lolium perenne*) e trevo branco (*Trifolium repens*). Essas práticas também afetam as comunidades microbianas, com a aplicação de fertilizantes ou calagem ocorre um aumento no número de bactérias e diminuição da biomassa fúngica e ainda, trocas nas propriedades funcionais da microbiota. Em pastagens de solos ácidos, os fungos são os maiores componentes da biomassa microbiana do solo, contribuindo significativamente com nutrientes e rotação orgânica, incluindo proteólise, mobilização e translocação de fósforo. Segundo os autores, a estrutura de populações de fungos do solo de pastagens ácidas e os efeitos de parâmetros ambientais são pouco conhecidos. A baixa diversidade de plantas está associada à baixa diversidade de microrganismos.

Segundo Bailey & Lazarovits (2003), modificações nas práticas culturais com o tempo levam ao declínio na estrutura do solo e com isto um aumento em doenças de plantas, veiculadas pelo solo. Práticas agrícolas que incorporam resíduos orgânicos corrigidos ao solo, considerando o tipo e a qualidade do resíduo, têm impacto direto na saúde e produtividade da planta. As práticas de manejo de solo envolvem o tipo de cultura, a rotação, a quantidade e a qualidade de matéria orgânica que retorna ao solo.

Para Schloter et al. (2003), interações entre a diversidade de produtores primários (plantas) e dos decompositores (micróbios e a comunidade de mesofauna), os dois grupos funcionais que formam a base do ecossistema tem maior consequência na funcionalidade do ecossistema agrícola. Microrganismos do solo controlam a transformação e mineralização dos compostos naturais e xenobióticos. A microbiota do solo existe em extrema densidade e diversidade, modificando rapidamente o rendimento energético e ativamente as trocas nas condições ambientais. Esses consórcios microbianos possuem a habilidade para prover reservas ambientais por ajustar a taxa de atividade; a biomassa; e a estrutura da comunidade. Esses parâmetros são particularmente importantes na avaliação da qualidade do solo. A atividade microbiana é regulada pelas condições nutricionais, temperatura e disponibilidade de água e outros fatores como concentração de prótons e suprimento de oxigênio.

Cabello e Arambarri (2002) isolaram microfungos da rizosfera de uma floresta nativa não perturbada e de outra floresta perturbada. Cinquenta e quatro taxa foram isolados: 49 do solo de floresta não perturbada e 37 do solo de floresta perturbada. *Acremonium* sp., *Aspergillus ustus*, *Coemansia pectinata*, *Doratomyces stemonitis*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Gliocladium roseum*, *Humicola fusovata*, *Metarhizium anisopliae*, *Mortierella* sp., *Penicillium lilacinum*, *P. frequentans*, *Trichoderma harzianum*, e *T. koningii*, mostram alta frequência, em ambas as florestas, perturbada e não perturbada. No solo da floresta não perturbada o índice de biodiversidade foi 3,97 e no solo perturbado foi 3,89. O número de colônias no solo da área não perturbada foi duas vezes maior do que na perturbada. *Beauveria bassiana*, *Volutella ciliata* e *Wardomyces inflatus* foram isolados exclusivamente da floresta não perturbada. Já na perturbada os fungos que apareceram exclusivamente foram: *Arthrobotrys oligospora*, *Cladosporium cladosporoides*, *Cunninghamella elegans*, *Humicola grisea*, e *Thielavia terricola*.

Para Atlas & Bartha (1997), a rizosfera é a camada de solo aderida às raízes dos vegetais. O grande número de populações microbianas na rizosfera deve-se as interações que ocorrem entre os microrganismos e as raízes das plantas, devido à troca de nutrientes entre eles. Embora, muitas das interações que ocorrem entre plantas e microrganismos da rizosfera sejam favoráveis a ambos, é neste local onde se encontram também a maioria dos patógenos vegetais.

A rizosfera pode ser dividida em fases que, embora distintas, são inter-relacionadas como: o efeito das raízes liberando compostos orgânicos, sobre os microrganismos do solo; o efeito dos microrganismos da rizosfera na, promoção de crescimento das plantas; a influência da rizosfera sobre os patógenos de solo e, ainda, a atuação de microrganismos da rizosfera, na mineralização de poluentes, como herbicidas, protegendo, assim, as plantas cultivadas dos efeitos prejudiciais dos pesticidas. A introdução de microrganismos do solo, como *Rhizobium*, *Frankia*, *Azospirillum*, fungos micorrízicos, bactérias promotoras do crescimento de plantas, agentes de biocontrole e o estabelecimento dos mesmos na rizosfera trazem benefícios à agricultura, pois a colonização radicular é indispensável para que o controle biológico de pragas e fitopatógenos do solo sejam efetivos (Melo, 2000).

Para Bronick & Lal (2005), a rizosfera tem uma grande população de macro e microrganismos que contribui na formação do carbono orgânico do solo e sua agregação. Quimicamente as raízes aumentam a agregação por liberarem uma série de compostos, os quais têm efeito de cimentação das partículas do solo. A biota e o teor de produtos orgânicos contribuem para o desenvolvimento da estrutura do solo. A estrutura do solo se refere ao tamanho, forma e arranjo de sólidos e lacunas, de poros e a capacidade para reter e transmitir fluidos e substâncias orgânicas e inorgânicas e a habilidade para suportar o crescimento das raízes. Raízes e hifas podem emaranhar as partículas enquanto, reorganizam-nas e liberam compostos orgânicos que prendem essas partículas. A estrutura do solo pode ser significativamente modificada através de práticas de manejo e mudanças ambientais. Práticas que aumentam a produtividade e diminuem a ruptura do solo, aumentando a agregação e desenvolvimento estrutural.

2.1.1. Interações na rizosfera

Gonzalez Salgado et al. (1999), avaliaram a população de bactérias, actinomicetes e fungos na rizosfera de cultivos de tomateiro e de batata tratados e

não tratados com *Trichoderma harzianum*. Não houve diferença significativa em relação a quantidade total de bactérias e fungos rizosféricos nos cultivos tratados e não tratados. Verificaram que houve um aumento significativo de *Azotobacter*, e diminuição de actinomicetes nos cultivos tratados com *T. harzianum*. No cultivo de tomate *T. harzianum* proporcionou um aumento da massa fresca, da altura e diâmetro do caule.

Pandey et al. (2001) verificaram a presença de fungos como *Trichoderma pseudokoningii*, *T. koningii*, *Penicillium erythromellis*, *P. janthinellum*, *P. raistickii*, na rizosfera de arbustos de chá em várias localidades da Índia. Houve maior variação sazonal para *Penicillium* spp. do que para *Trichoderma* spp. A população de *Trichoderma* e *Penicillium* apresentou correlação inversa com as populações das duas bactérias dominantes na rizosfera, *Bacillus subtilis* e *B. mycoides*. Essas bactérias têm apresentado antagonismo aos dois fungos *in vitro* o que foi confirmado *in situ* no referido trabalho.

As espécies de *Trichoderma* são numerosas e dominantes em solos agrícolas; elas persistem e multiplicam-se na presença de raízes de plantas saudáveis. Os mecanismos pelos quais isolados de *Trichoderma* atuam são: micoparasitismo (enrolamento, penetração e dissolução da parede das hifas do patógeno por enzimas), antibiose (produção de compostos antimicrobianos), competição por nutrientes e espaço, promoção do crescimento de plantas (pela ausência de patógenos e solubilização de fosfato e micronutrientes, os quais ficam disponíveis para as plantas), tolerância ao estresse (devido ao aumento de raízes e desenvolvimento de plantas); indução de resistência (espessamento de paredes celulares por lignificação, formação de calose, produção de proteínas relacionadas à patogênese e fitoalexinas) e inativação das enzimas dos patógenos (Harman, 2000; Whipps, 2001; Howell, 2003).

Para Yedidia et al. (2000), *T. harzianum* tem sido citado como saprófita comum da rizosfera e tem provado ser efetivo, como agente de controle biológico, contra uma variedade de patógenos habitantes do solo e de partes aéreas de plantas. Várias evidências vêm mostrando que a colonização de raízes por microrganismos não patogênicos, como as bactérias promotoras de crescimento de plantas e muitos fungos, desencadeiam respostas de defesa nas plantas. Segundo Kubicek et al. (2003), *Trichoderma* spp. são fungos de rápido crescimento, com capacidade de utilização de diversos substratos e resistência para produtos químicos nocivos.

Ocorrem em vários solos como agrícola, campina, floresta, pântano salgado e solos desérticos em todas as zonas climáticas. São decompositores de madeira, de materiais herbáceos e necrotróficos de decompositores primários. Algumas das 35 espécies são produtoras de enzimas e antibióticos, ou utilizadas como agentes de controle biológico. Segundo os autores, ainda não se sabe se essas propriedades são típicas de somente poucas espécies, ou de muitas ou todas as espécies de *Trichoderma*.

Thangavelu et al. (2004) isolaram *Trichoderma* spp. da rizosfera de bananeira de diferentes áreas na Índia. O potencial antagonista de *Trichoderma* spp. foi testado *in vitro*, contra *Fusarium oxysporum*, causador de murcha em bananeira. O isolado Th-10 de *T. harzianum* foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum*. O isolado de *T. harzianum* produziu alta densidade de propágulos em folhas secas de bananeira; esta formulação, adicionada ao solo, controlou efetivamente a murcha de *Fusarium* com eficiência comparável a do fungicida carbendazim.

Celar (2003) averiguou o papel da competição por nitrogênio nas interações entre fungos antagonistas e fitopatogênicos. Cinco fungos fitopatogênicos foram utilizados no experimento, três *Fusarium* spp. (*F. solani*, *F. sambucinum* e *F. moniliforme*), *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Quatro competiram com *Trichoderma* spp. (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum*, *T. viride* e *T. koningii*). Comparado com o fungo fitopatogênico em muitos casos o fungo antagonista usou nitrogênio como amônia em altas taxas nos primeiros seis dias de cultivo. Após os primeiros dias de cultivo o antagonista trocou a fonte de nitrogênio para nitrato. Em contraste as espécies de *Fusarium* usaram uma quantidade de nitrato significativamente maior do que o antagonista. *R. solani*, e *S. sclerotiorum* utilizaram primeiro amônia e quando este ficou limitado trocaram para nitrato. *Fusarium* spp. utilizaram duas fontes de nitrogênio ao mesmo tempo. Se o nitrogênio fosse considerado como somente uma variável, *Fusarium* spp. teriam relativa vantagem sobre o antagonista por ser hábil em utilizar ambas as formas do nitrogênio simultaneamente.

Segundo Harman et al. (2004), *Trichoderma* é um fungo de vida livre que interage em ambientes como solo, raízes e folhas. Muitas espécies competem com outros microrganismos por exsudados de sementes os quais estimulam a germinação de propágulos de fungos fitopatogênicos no solo; podem também competir com

outros microrganismos de solo por nutrientes ou por espaço. Para os autores, os fungos considerados competentes na rizosfera são aqueles que possuem a habilidade de colonizar e crescer em associação com raízes de plantas, característica essa já avaliada em algumas espécies de *Trichoderma*.

Para Howell (2003), os mecanismos antagonistas de *Trichoderma* spp. são fortemente influenciados pelo tipo de solo, temperatura e umidade bem como pela microbiota associada.

Para Bae & Knudsen (2005), o crescimento micelial e a eficiência de *Trichoderma harzianum* como agente de controle biológico podem depender das interações com a biota do solo. Nesse sentido Roberts et al. (2005) verificaram a ação de dois isolados de *Trichoderma virens* e uma coleção de isolados de bactérias para controle dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum* e do nematóide *Meloidogyne incognita* em pepino. Os isolados de *T. virens* foram efetivos contra *R. solani* em casa de vegetação. As bactérias *Burkholderia ambifaria*, *B. cepacia* e *Serratia marcescens* também foram muito efetivas contra os patógenos testados. Os isolados de *T. virens* e de *S. marcescens* foram mais efetivos na supressão do tombamento de pepino causado por *P. ultimum* em experimentos em câmara de cultivo. Os tratamentos, utilizando os microrganismos, individualmente ou, em combinação não foram efetivos contra *M. incognita*. A aplicação de um formulado com o isolado GL21 de *T. virens* combinado com *B. cepacia* ou *B. ambifaria* em sementes de pepino aumentou a supressão de *R. solani* em relação aos tratamentos individuais. O efeito do tratamento com o isolado GL21 de *T. virens* combinado com *B. cepacia*, *B. ambifaria* e *S. marcescens* em estandes de plantas foi similar, ou melhor, do que o tratamento individual para *R. solani*. *B. ambifaria* combinada com o isolado GL21 em sementes resultou numa significativa supressão do tombamento causado por *P. ultimum* em dois dos três tratamentos utilizando esta combinação. A população dos isolados de *T. virens* quando combinados com *B. cepacia* ou *S. marcescens* foi reduzida substancialmente após 10 a 12 dias da infestação na rizosfera de pepino. Populações do isolado de *T. viride* G21 foram reduzidas com a combinação *B. ambifaria*. Os resultados, bem como o sistema de ensaio utilizado, variaram com as combinações entre os microrganismos.

2.2. Interação fungo/planta

As associações mutualísticas, entre fungos e organismos fototróficos, são numerosas; muitas destas associações são comuns, como os líquens e as micorrizas, porém outras, como os endofíticos de plantas e algas, são menos conhecidas. As interações mutualísticas são responsáveis por várias adaptações dos organismos fototróficos para a vida na terra (Selosse & Tacon, 1998).

Os fungos podem habitar a superfície das plantas como epifíticos e também o interior das mesmas como endofíticos. Segundo Azevedo (1998); Azevedo (1999); Peixoto-Neto et al. (2002) e Maccheroni Jr. et al. (2004), a distinção entre endofíticos, epifíticos e patógenos tem significado puramente didático. É difícil estabelecer os limites para discriminar cada categoria, não existe um claro limite entre grupos e sim um gradiente entre eles. Azevedo et al. (2000) ampliaram a definição de microrganismos endofíticos, para microrganismos que habitam o interior de tecidos vegetais sem causar danos ao hospedeiro e sem formar estruturas externas visíveis.

Fungos e bactérias endofíticos vivem em mutualismo com as plantas hospedeiras, recebendo nutrientes e produzindo compostos químicos, como enzimas, fitohormônios, alcalóides e antibióticos, entre outros, que protegem e auxiliam a planta em certas condições de estresse causadas por falta de água, presença de substâncias tóxicas, ataque de patógenos ou de insetos-praga; podem ainda produzir compostos de importância biotecnológica, como enzimas e fármacos. Todo microrganismo que habita, por algum tempo, o interior de um vegetal, pode ser considerado endofítico. Os fungos endofíticos podem penetrar na planta, através de estômatos, ferimentos e produção de enzimas hidrolíticas que facilitam a colonização Maccheroni Jr. et al. (2004).

Os microrganismos endofíticos podem se tornar patogênicos aos hospedeiros, em condições de desequilíbrio. Diversos fungos endofíticos estão, taxonomicamente, relacionados a fitopatógenos dos mesmos hospedeiros. Um exemplo é o fungo endofítico *Guignardia mangiferae* (Sin. *G. endophyllicola*), o qual é relacionado, filogeneticamente, a *G. citricarpa*, causador da mancha preta dos citros. Por outro lado a mutação de um gene transformou uma linhagem patogênica de *Colletotrichum magna* em uma linhagem endofítica. Dependendo da raça fisiológica, *Fusarium oxysporum* pode ser isolado, como endofítico ou como patógeno, causador de murcha em tomate. A linhagem avirulenta pode ser utilizada

para controlar a murcha, causada pela linhagem virulenta do *F. oxysporum* (Peixoto-Neto et al., 2002). Nesse sentido, Silva & Bettioli (2005) avaliaram nove isolados de *Fusarium oxysporum* não patogênicos ao tomateiro, para controle da murcha vascular causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, raça 2 em plântulas de tomateiro. Os isolados não patogênicos de *F. oxysporum* foram eficientes no controle da doença causada pela raça patogênica de *F. oxysporum* e em manter normal o crescimento das plântulas de tomateiro.

As espécies de *Fusarium* causam doenças em grande quantidade de plantas. O fungo pode ser habitante do solo, do ar, ou de resíduos de plantas e pode ser recuperado de qualquer parte da planta. A maioria dos isolados de *F. oxysporum* que causam murcha vascular são linhagens específicas que infectam somente um pequeno número de hospedeiros e têm sido diferenciadas pelo termo sub-específico de forma especial (f. sp.), por exemplo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* é a linhagem que causa murcha em bananeira., *F. oxysporum* f.sp. *nicotiniana* é o causador da murcha em fumo (Summerell et al. 2003). Porém, segundo Kucharek et al.(2000), a cultura de batata doce também é suscetível a esta forma especial, portanto, não deve ser utilizada para rotação de cultura com o fumo.

Segundo Skovgaard et al. (2002), quarenta e nove linhagens do complexo *Fusarium oxysporum* foram isoladas de duas áreas vizinhas, de cultivo de ervilha. Trinta e nove das linhagens foram isoladas do solo e 10 de plantas de ervilha com sintomas de podridão de raízes. Vinte e oito foram testadas para patogenicidade em ervilha. Baseados no percentual de descoloração de raízes e da base dos caules, os isolados foram divididos em três grupos: sete linhagens virulentas, 14 levemente virulentas, e sete não patogênicas para ervilha. Para avaliar o parentesco genético das 49 linhagens foi feito o seqüenciamento de genes de DNA (parte do fator de alongação, nitrato redutase, beta tubulina) e ainda pequenas subunidades de DNAr mitocondrial. A análise dos dados combinados produziu um grupo com três cladogramas fortemente associados o que pode representar espécies crípticas. Não houve correlação entre a estrutura filogenética e a patogenicidade para ervilha segundo a origem geográfica, e o substrato (solo ou planta) dos quais as linhagens de *F. oxysporum* foram isoladas. Para os autores essa falta de correlação sugere que as linhagens do complexo *F. oxysporum* causadoras de apodrecimento de raízes tenham evoluído recentemente de um ancestral não patogênico, ou que alguns desses isolados tenham perdido sua habilidade para causar a podridão de raízes. Os fungos

dos três clados foram hábeis em infectar as plantas e viver como endofíticos ou como parasitas em seus hospedeiros.

O fungo *Botryosphaeria dothidea* é responsável pela seca dos ramos e pelo cancro em várias espécies de *Eucalyptus*, no sul da África; no entanto, esse fungo foi isolado com alta frequência, como endofítico de folhas saudáveis de *Eucalyptus grandis* e *E. nitens*, em duas regiões distintas do sul da África (Smith et al., 1996). Também, Bettucci et al. (2004) isolaram *B. dothidea*, juntamente com *Sphaeropsis sapinea*, e *Colletotrichum gloesporioides*, como endofíticos de *Eucalyptus* spp., cultivados no Uruguai.

Para Hadacek & Kraus (2002), os endofíticos utilizam carboidratos das plantas, em baixas concentrações, e sugerem que os açúcares das plantas podem constituir sinais que facilitam adaptações de certos fungos, como específicos de certas plantas hospedeiras. Bettucci et al. (2004) verificaram a composição de fungos endofíticos de ramos e folhas de *Blepharocalyx salicifolius*, *Myrceugenia glaucescens* e *Acca sellowiana* (Myrtaceae-Myrtoideae), com distribuição natural, em uma área central do Uruguai. *Xylaria enteroleuca*, *Pestalotiopsis guepinii* e micélio estéril colonizaram tecidos dos diferentes hospedeiros. Os resultados mostraram diferenças na composição dos endofíticos, entre *M. glaucescens* e os outros dois hospedeiros, sugerindo preferência pelo hospedeiro. Contrariamente *B. salicifolius* e *A. sellowiana* foram caracterizadas pela similaridade entre a composição de espécies. Os autores ressaltaram a necessidade de mais pesquisas no sentido de avaliarem se há preferência de alguns endofíticos por certos hospedeiros, bem como os fatores que determinam esta característica.

Populações de microrganismos não patogênicos são encontradas nas plantas, como epifíticas e endofíticas, tanto no filoplano, como na rizosfera (Melo, 2000). Com relação aos fungos epifíticos, Maccheroni Jr. et al. (2004) citaram que os mesmos habitam a superfície da planta hospedeira e podem apresentar interação mutualística, impedindo a colonização por microrganismos patogênicos, ou ainda produzir substâncias que evitam a herbivoria por insetos e mamíferos. Nesse tipo de interação, o fungo também é beneficiado com os carboidratos exsudados pela planta; já no comensalismo, o fungo epifítico coloniza a superfície da planta, obtendo os carboidratos sem produzir nada para a planta. Fungos endofíticos podem, inicialmente, habitar a superfície da planta como epifíticos e, após algum tempo, penetrar através de estômatos ou ferimentos. Os fungos patogênicos também podem

colonizar a superfície da planta e, posteriormente, causar a doença. A maioria dos fungos são saprófitas, porém alguns são parasitas, os quais afetam o desenvolvimento das plantas hospedeiras e podem causar a morte das mesmas. As populações microbianas do solo, do rizoplano e do filoplano e endofíticas interagem com as plantas. Os sistemas intensivos de produção agrícola podem causar desequilíbrio entre essas diferentes populações, favorecendo o estabelecimento e desenvolvimento dos fungos fitopatogênicos. Segundo Hadacek e Kraus (2002), os endofíticos constituem porção essencial da diversidade fúngica e incluem fungos mais especializados do que os da rizosfera e os do solo distante das raízes. Já a rizosfera, comparada aos demais solos, abriga maior diversidade de fungos.

Lopez-Llorca et al. (2002) inocularam plântulas de cevada com o fungo nematófago *Verticillium chlamydosporium*, e após duas semanas, o fungo havia colonizado a rizosfera. As hifas penetraram através de apressórios nas células epidérmicas das raízes, três semanas após a inoculação. No interior das células epidérmicas, formou-se uma rede de hifas e houve colonização também de células corticais. Reações, como produção de gotículas e calose, foram comuns, o que pode indicar indução de defesa na planta. Os resultados também podem ter implicação no modo de ação do fungo, contra os nematóides parasitas dessa planta.

Benhamou et al. (1997), verificaram a indução de resistência em tomateiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* por *Pythium oligandrum*. Já Al-Rawahi (1998) verificou em cultura dual que *Pythium oligandrum* impediu o crescimento e formação de microesclerócios de *Verticillium dahliae*. Segundo o autor, em experimentos de casa de vegetação com pimenta cultivada em solo infestado por *V. dahliae* houve um aumento significativo no peso de caules e frutos quando a planta foi cultivada na presença de *P. oligandrum* do que na ausência.

Para Atkinson & Watson (2000), as interações benéficas, prejudiciais ou neutras, entre raízes de plantas e microrganismos, são reguladas por uma sinalização molecular complexa. A existência da indução microbiana para a exsudação de plantas e a planta, exsudando em resposta à presença de microrganismos, sugere um grau de co-evolução entre as plantas e os microrganismos do solo.

Segundo Wilberforce et al. (2003), três sítios de características físicas similares, diferindo em manejo foram escolhidos para testar a hipótese de que perturbação agrícola tem efeitos deletérios sobre a diversidade de fungos endofíticos e favorece as espécies potencialmente patogênicas. As coletas foram realizadas

bimensalmente durante o ano de 2000. Foram isolados fungos endofíticos de raízes e das amostras de solo foram avaliados N mineral, umidade, potencial de água e pH. O maior número de espécies ocorreu em julho e novembro 29 cada um, porém a colonização média das raízes ocorreu em julho, sendo que os dois meses com menor número de espécies foram março e janeiro, mas com alta colonização. Os fungos de micélio estéril identificados em morfoespécies pela aparência das colônias predominaram. Também foram isolados fungos dos gêneros *Acremonium*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Alguns gêneros foram isolados uma só vez (apenas de uma amostragem) como *Absidia*, *Dictiosporium*, *Gliomastix*, *Gonytrichum* e *Moniliella*. Os resultados demonstram diferenças quantitativas entre comunidades de fungos da raiz em relação ao manejo, com significativa correlação com as variáveis ambientais.

Santamaría & Bayman (2005) compararam comunidades de fungos epifíticos e endofíticos de folhas de café (*Coffea arabica*) coletadas em seis pontos em Porto Rico. Um total de 821 colônias foram isoladas e agrupadas em 131 morfoespécies. Os fungos que não esporularam foram reunidos em quatro grupos por afinidade taxonômica, determinados por seqüenciamento de regiões ITS do rDNA, sendo dois grupos formados com *Xylaria*, um com *Botryosphaeria* e outro com *Guignardia*. *Pestalotia* e *Botryosphaeria* foram significativamente mais comuns como epifíticos e *Colletotrichum*, *Xylaria* e *Guignardia* como endofíticos. Mais morfoespécies ocorreram como endofíticos do que como epifíticos.

Santos et al. (2003) isolaram fungos endofíticos de *Melia azedarach* (córtex de raiz, de caule de folhas e de frutos e xilema de raiz) coletadas no Brasil em 1998 (agosto estação seca) e 1999 (março estação de chuvas). Um total de 59 isolados foram obtidos de tecidos saudáveis de *M. azedarach*. Esses isolados foram agrupados em 18 espécies, um Coelomycete e 17 Hyfomicetes. Oito gêneros foram registrados, com um incluído em Ascomycete (*Balansia* sp.) e um Basidiomycete (não identificado) nesse total de isolados não foram incluídos os fungos de micélio estéril. Os gêneros mais comuns foram *Aspergillus* e *Penicillium*.

Hervás et al. (1998) testaram um isolado de *Bacillus subtilis*, um isolado de *Fusarium oxysporum* não patogênico e um isolado de *Trichoderma harzianum* aplicados sozinhos ou em conjunto em cultura de grão de bico, para controle da murcha causada por uma raça virulenta de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. Os três microrganismos aplicados juntos foram eficientes no controle da doença comparando

com o controle. A combinação entre *B. subtilis* e *T. harzianum* foi eficiente no controle da doença mas não diferiu significativamente quando os mesmos foram aplicados separadamente. A mistura de *B. subtilis* e *F. oxysporum* não patogênico não foi eficiente, no entanto, quando aplicados sozinhos reduziram significativamente o desenvolvimento da doença.

Para Yedidia et al. (2000), *T. harzianum* tem provado ser efetivo, como agente de controle biológico, contra uma variedade de patógenos importantes do solo e de partes aéreas de plantas. Várias evidências vêm mostrando que a colonização de raízes por microrganismos não patogênicos, como as bactérias promotoras de crescimento de plantas e muitos fungos, desencadeiam respostas de defesa nas plantas. Também a colonização da epiderme e de camadas externas do córtex inicia uma série de modificações morfológicas e bioquímicas nas plantas. As respostas de defesa incluem indução de proteínas relacionadas à patogênese (RP), com especial ênfase à acumulação de hidrolases nas plantas, como quitinases, e β -1,3-glucanases, com potencial antimicrobiano; acumulação de fitoalexinas e deposição de polímeros estruturais, como calose e lignina.

As espécies de *Trichoderma* são oportunistas e avirulentas para plantas nas quais são simbioses, e parasitas de outros fungos. Algumas linhagens permanecem, por longo tempo, colonizando a superfície das raízes, penetram na epiderme e, em poucas células de camadas internas. Produzem e liberam uma variedade de compostos que induzem resistência localizada ou sistêmica nas plantas. A colonização da rizosfera, por *Trichoderma* spp., promove o crescimento de raízes e aumenta a produtividade, a resistência a estresses abióticos e a utilização de nutrientes (Benítez et al. 2004; Harman et al. 2004; Samuels, 2006). Segundo Benítez et al. (2004), linhagens de *Trichoderma* atuam ainda no controle de fungos fitopatogênicos indiretamente por competição por nutrientes e espaço, modificações ambientais e antibiose, ou diretamente, por mecanismos como micoparasitismo. Esses mecanismos podem atuar juntos ou separadamente e sua importância no processo de biocontrole depende da linhagem de *Trichoderma*, do fungo a ser controlado, da planta, e das condições ambientais, incluindo disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, e concentração de ferro. Para Harman et al. (2004), espécies de *Trichoderma* inibem a produção ou degradam pectinases e outras enzimas essenciais a fungos fitopatogênicos que as utilizam para penetrarem em folhas como, por exemplo, *Botrytis cinerea*. Conforme os autores, o conhecimento

do efeito direto deste fungo sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas é de importância crucial para uso na agricultura e entendimento do papel de *Trichoderma* nos ecossistemas naturais e manejados.

2.3. Fumo (*Nicotiana tabacum* L.)

Segundo Willani (2004), no Brasil o fumo é cultivado em pequenas propriedades. Como o cultivo ocorre ano após ano, nas mesmas áreas, a rotação de cultura tem sido insuficiente. Devido a isto, vêm ocorrendo um aumento na incidência de doenças, principalmente as causadas por fungos e bactérias habitantes de solo. Portanto, se faz necessário o manejo integrado de pragas e doenças para mantê-las em determinado nível de equilíbrio não comprometendo a produtividade e lucratividade.

O sistema de produção de mudas de fumo usando a tecnologia *float*, constituído por bandejas de isopor, que flutuam em uma lâmina de água de 8 cm de altura, previamente fertilizada, representa quase que a totalidade de mudas atualmente produzidas. Além de eliminar o uso do Brometo de metila, na esterilização dos canteiros, essa técnica tem propiciado muda de boa qualidade (Massola et al., 2005).

O fumo é semeado em maio, transplantado em agosto e setembro e colhido no período de dezembro a fevereiro. As mudas, após a semeadura levam cerca de 60 dias para atingir o tamanho necessário para o plantio, nessa fase o controle de pragas e doenças é intensivo. As mudas são transplantadas para a lavoura, já com a área adubada. A colheita das folhas é iniciada cerca de 60 dias após o plantio. Durante essa etapa, o crescimento deve ser monitorado e realizado o controle integrado de pragas e doenças, a retirada das flores para melhor desenvolvimento das folhas, aumentando, assim seu peso e qualidade (Deser, 2003).

Massola Jr. et al. (2005) os principais tipos de fumo cultivados no Brasil, estão relacionados com a finalidade a que se destinam, sendo os mais representativos: Estufa (Virginia e Amarelinho); Galpão (Burley, Comum, Maryland e Dark); Oriental (Izmir, Basma e Gavurkoy); Charuto (Brasil Bahia e Sumatra), Araparica (Araparica e suas seleções) e Corda (Tietê, Minas, Ouro de Minas e Goiano).

Segundo Shew & Lucas (1991), as doenças que causam as maiores perdas em todos os tipos de fumo ocorrem em todas as partes da planta e todos os estágios

do desenvolvimento. As doenças resultam da interação entre patógenos, fatores ambientais e hospedeiros suscetíveis. Os patógenos do fumo incluem fungos, bactérias, vírus, nematóides, micoplasmas e plantas parasitas. O fumo é resistente a muitos patógenos que ocorrem na natureza. Entretanto, mais do que 50 organismos atacam o fumo e utilizam raízes, ramos ou folhas como fonte de alimento.

2.3.1. Doenças causadas por fungos e oomicetes em fumo

Shew & Lucas (1991) citam os seguintes fungos causadores de doenças em raízes e caules de plantas de fumo: *Phytophthora parasitica* Dastur var. *nicotianae* (Breda de Hann); *Pythium ultimum* Trow var. *ultimum* e *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *Thielaviopsis basicola* (Berk e Broome) Ferraris., *Sclerotium rolfsii* Sacc. (teleomorfo: *Athelia rolfsii* (Cruzi) Tu & Kimbrough), *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk), *Fusarium oxysporum* Schlecht. ex Fr. f.sp. *nicotianae* (J. Johnson) W.C. Snyder & H. N. Hans., *Verticillium dahliae* Kleb., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, *Olpidium brassicae* (Woronin) P.M. Dang. e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

Segundo Willani (2004), *Fusarium* spp. são fungos de difícil controle em mudas, principalmente no sistema *float*, onde as fontes de inóculos são o solo e a água contaminados e a reutilização das bandejas. Na lavoura *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* pode ser introduzido por mudas contaminadas. O fungo penetra no sistema radicular por feridas, geralmente causadas por nematóides. Permanece no solo na forma de estruturas resistentes às condições adversas e sobrevive na matéria orgânica. Alta umidade, dias nublados ou chuvosos associados a temperaturas elevadas favorecem esta doença. O autor destaca, ainda, patógenos como *Rhizoctonia solani* ou *Thanatephorus* spp. (*Rhizoctonia* ou mancha aureolada). *Pythium* spp. ocorre, geralmente, em mudas jovens junto à linha do solo, causando mancha marrom a qual circunda o colo, causando amarelecimento, murchamento e, posterior queda das mudas. *Sclerotinia sclerotiorum* (Esclerotinia ou Mofo Branco) causa podridão mole nas mudas e na lavoura. *Peronospora tabacina* (Mofo Azul). *Alternaria alternata* (olho de peixe). *Cercospora nicotianae* (cercosporiose ou olho de rã). Amarelão doença que pode ser causada por um complexo de fungos (*Phytophthora* spp., *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*, *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp.) Doença recente e ainda pouco estudada, ocorre na forma de manchas amareladas e é mais comum em fumo do tipo Burley, os sintomas surgem após

períodos úmidos e são comumente, identificados, como afogamento. Após ampliarem-se atingindo áreas consideráveis da lavoura. Com períodos de melhoria do clima, ocorre recuperação parcial destas manchas. Posteriormente, as mesmas áreas, podem apresentar perdas por murcha bacteriana, a qual se aproveita das raízes estarem doentes para infectar as plantas. O transporte do solo contaminado pela água da chuva e por implementos, dissemina a doença dentro da propriedade e entre propriedades. O sintoma mais característico é o amarelecimento em forma de manchas. O sistema radicular apresenta-se pouco desenvolvido, com pequena presença de raízes secundárias, as quais geralmente estão enegrecidas e com partes apodrecidas. É uma doença de sistema radicular e não ataca o caule. A confirmação do agente causal somente pode ser obtida por exame laboratorial. Também foi observado que há uma forte correlação entre solos degradados, rasos ou com baixa capacidade de infiltração e a incidência da doença. Até o momento não foram identificadas cultivares resistentes.

2.3.2. Controle

Segundo Bettiol & Ghini (2004), o controle do tombamento em plântulas de fumo, causado por *Pythium*, *Sclerotinia* e *Rhizoctonia* era basicamente realizado com a desinfestação dos canteiros com brometo de metila e aplicação de fungicidas à base de mancozeb, metilaxyl e iprodione. No sistema *float*, foi eliminado o uso do brometo de metila. Os fungos podem ser controlados com produtos biológicos como o bioformulado a base de *Trichoderma* cultivado em arroz. O produto final é misturado ao substrato do *float* na proporção de 100 g/100 Kg de substrato, volume suficiente para completar 200 bandejas com 200 células. Nos canteiros, o produto é dissolvido na água e aplicado após a semeadura. Uma aplicação é suficiente para o controle da doença tanto no substrato, quanto nos canteiros.

Weiler (2004) testou a ação de três isolados de *Trichoderma* sp. em plântulas de fumo produzidas no sistema *floating* e a influência de produtos a base de iprodione e oxiclureto de cobre na sobrevivência do fungo. Constatou diferenças significativas na altura das plântulas, diâmetro de caule, peso seco da parte aérea e raízes e o desenvolvimento de *Trichoderma* sp. junto às raízes tratadas. Não houve diferenças significativas na sobrevivência de *Trichoderma* sp. em mudas tratadas com iprodione e oxiclureto de cobre. Segundo o autor, a utilização de bioformulados

à base de *Trichoderma* sp., além de favorecer o desenvolvimento de plântulas de fumo é compatível com as práticas de manejo utilizadas na produção das mesmas.

CAPÍTULO II

3. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETAS

As amostras foram coletadas de maneira sistemática em uma propriedade rural, situada na cidade de Venâncio Aires, RS (29°60'63''S e 52°19'19''O e altitude de 210m). O solo é do tipo Argissolo Vermelho-Amarelo alumínico alissólico – PVAa 2, pertencendo a Unidade Vera Cruz (EMBRAPA – CNPS, 1999). O clima segundo a classificação de Köppen é subtropical, Cfa2 com temperatura média anual de 19,4° C e precipitação média de 1.700 mm (DNPEA 1973). A propriedade de 5 hectares, está dividida em três áreas como segue.

Área 1, de 2 hectares, com mata nativa (destinada à reserva). A mata apresenta-se em um estágio secundário de regeneração, tendo como espécies predominantes no estrato arbóreo a guajuvira (*Patagonula americana*), o jerivá (*Syagrus romanzoffiana*), o camboatá-vermelho (*Cupania vernalis*) e a canela-fedorenta (*Nectandra megapotamica*). No estrato das arvoretas ocorrem com mais frequência o chal-chal (*Allophylus edulis*), topete-de-cardeal (*Calliandra tweediei*), e os catiguás (*Trichilia elegans*, *T. clausenii*). Criciúma (*Chusquea* sp.), café-do-mato (*Psychotria cf. carthagenensis*) e flor-de-fogo (*Ruellia angustifolia*) são as espécies mais comuns no estrato arbustivo. Em meio a essas, existem alguns cipós como a rapa-canela (*Byttneria australis*), cipó-escada-de-macaco (*Bauhinia macrostachya*) e o esporão de galo (*Celtis cf. tala*) (De Marchi, 2005, comunicação pessoal).

Tabela 1. Lista florística da área 1 (mata natural)*. Venâncio Aires, RS. 2005

Nome Científico	Nome Popular	Família	Hábito**
<i>Acalypha gracilis</i> Müll. Arg.	acalifa	EUPHORBIACEAE	Ab
<i>Allophylus edulis</i> (A. St.-Hil.) Radlk.	chal-chal	SAPINDACEAE	Av
<i>Bauhinia microstachya</i> (Raddi) Macbride	cipó escada-de-macaco	FABACEAE	Li
<i>Bauhinia forficata</i> Link	pata-de-vaca	FABACEAE	At
<i>Calliandra tweediei</i> Benth.	topete-de-cardeal	FABACEAE	At
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	chá-de-bugre	SALICACEAE	Av
<i>Cayaponia</i> sp.		CUCURBITACEAE	Li
<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	cedro	MELIACEAE	Av
<i>Celtis cf. tala</i> Gill. ex Planch.	Esporão-de-galo	CANNABACEAE	Li
<i>Chusquea</i> sp.	Criciúma	POACEAE	Ab
<i>Cryptocarya aschersoniana</i> Mez	Canela-amarela	LAURACEAE	Av
<i>Cupania vernalis</i> Camb.	Camboatá-vermelho	SAPINDACEAE	Av
<i>Dalbergia variabilis</i> Vogel	Rabo-de-bugio	FABACEAE	Av
<i>Dioscorea</i> sp.	Cará	DIOSCOREACEAE	Li
<i>Eugenia involucrata</i> DC.	Cerejeira	MYRTACEAE	Av
<i>Eugenia schuechiana</i> Berg.	Guamirim	MYRTACEAE	At
<i>Eugenia uniflora</i> Linn.	Pitangueira	MYRTACEAE	At
<i>Eugenia uruguayensis</i> Camb.	Batinga-vermelha	MYRTACEAE	At
<i>Gymnanthes concolor</i> (Spreng.) Müll. Arg.	Laranjeira-do-mato	EUPHORBIACEAE	At
<i>Lonchocarpus campestris</i> Mart. ex Benth.	Rabo-de-macaco	FABACEAE	At
<i>Luehea divaricata</i> Mart.	Açoita-cavalo	MALVACEAE	Av
<i>Matayba elaeagnoides</i> Radlk.	Camboatá-branco	SAPINDACEAE	Av
<i>Mikania</i> sp.	Guaco	ASTERACEAE	Li
<i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez.	Canela-fedorenta	LAURACEAE	Av
<i>Pachystroma longifolium</i> (Ness) I.M. Johnston	Mata-olho	EUPHORBIACEAE	Av
<i>Parapiptadenia rigida</i> (Benth.) Brenan	Angico	FABACEAE	Av
<i>Patagonula americana</i> Linn.	Guajuvira	BORAGINACEAE	Av
<i>Psychotria cf. carthagenensis</i> Jacq.	Café-do-mato	RUBIACEAE	Ab
<i>Byttneria australis</i> A. St.-Hil.	Rapa-canela	STERCULIACEAE	Li
<i>Ruellia angustifolia</i> Sw.	flor-de-fogo	ACANTHACEAE	Ab
<i>Serjania</i> sp.	cipó-timbó	SAPINDACEAE	Li
<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	Jerivá	ARECACEAE	Av
<i>Trichilia clausenii</i> C. DC.	Catiguá	MELIACEAE	At
<i>Trichilia elegans</i> A. Juss.	Catiguá-morcego	MELIACEAE	At
<i>Urera baccifera</i> (L.) Gaudich. ex Wedd.	Urtigão	URTICACEAE	Ab

* De Marchi (2005)

**Av (árvore, vegetal lenhoso, altura superior a 5 m); At (arvoreta, pequena árvore de até 5 m de altura); Ab (arbusto, vegetal lenhoso com pequeno tronco, tendo de 3 a 5 m de altura); Li (lianas, trepadeiras ou cipós), segundo Fernandes (2000).

Área 2, de meio hectare, adjacente à cultivada, onde predominam algumas plantas invasoras como: leitera (*Euphorbia heterophylla* L.); milhã (*Digitaria horizontalis* Willd.); papuã (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.); corda de viola (*Ipomea grandifolia* (Dammer) O'Don.); picão preto (*Bidens pilosa* L.); maria pretinha (*Solanum americanum* Mill.); trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.); poaia-branca (*Richardia brasiliensis* Gomez), guanxuma (*Sida rhombifolia* L.), sendo estas encontradas também na lavoura, e plantas não cultivadas como uva-do-japão (*Hovenia dulcis*). As plantas invasoras foram identificadas segundo Benetti (2004, comunicação pessoal) e Lorenzi (1994).

Área 3 de 1 hectare, destinada ao cultivo de fumo e nas entre safras milho. Nesta área também foram encontradas as mesmas plantas invasoras da área 2, no período de cultivo do milho. No ano de 2004 não foi plantado milho devido a estiagem, e em 2005 o milho plantado devido a estiagem foi utilizado como pasto para os animais. As mudas de fumo foram transplantadas em agosto com o solo previamente adubado com 800 kg de NPK (10:16:18) e 500 kg de salitre. Na lavoura não foram utilizados fungicidas, somente os inseticidas à base de acefato e imidacloprid.

O fumo cultivado foi do tipo Virgínia sendo que no ano de 2004 foi plantada a cultivar RG-8 e no ano de 2005 a cultivar K-326. As mudas foram produzidas pelo sistema *float* com *Trichoderma* spp. adicionado ao substrato na proporção de 2 g/kg de substrato. Os fungicidas utilizados no *float* foram à base de iprodione e propineb.

CAPÍTULO III

4. OCORRÊNCIA DE FUNGOS RIZOSFÉRICOS EM TRÊS COMUNIDADES VEGETAIS

4.1. INTRODUÇÃO

O solo é o habitat das plantas e de uma grande variedade de bactérias, fungos, protozoários e animais invertebrados, os quais contribuem para a manutenção da produtividade nos agroecossistemas. A agricultura intensiva vem reduzindo, drasticamente, a biodiversidade no solo Giller et al. (1997).

Para Pankhurst et al. (1996), embora a produtividade de sistemas agrícolas dependa da atividade dos microrganismos do solo, a biodiversidade das comunidades microbianas do solo e seus efeitos sobre a estabilidade de sistemas agrícolas são praticamente desconhecidos. Segundo os autores, pesquisas sobre sucessão ecológica, decomposição de matéria orgânica, associadas a fatores abióticos do solo e efeitos regionais, incluindo as práticas de manejo agrícola, devem ser consideradas quando se estuda a diversidade de comunidades microbianas.

Adler & Lew (1995) verificaram a distribuição de espécies de *Fusarium* ao longo de um gradiente de altitude, em solos não cultivados, os quais se estendiam de uma zona desértica subtropical, próxima do nível do mar, passando por uma zona temperada, até uma zona desértica subalpina, em torno de 2.300 m, em Tenefife, comparando-os com solos cultivados de Lanzarote e Palma e, com dois outros das Ilhas Canárias. Dos 5.493 isolados de *Fusarium*, foram identificadas 17 espécies e uma população não descrita. As espécies mais representativas foram *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani*, *F. brachygibbosum* e *F. flocciferum*. Os fungos *F. oxysporum* e *F. solani* ocorreram, com maior frequência, em solos cultivados do que em solos

não perturbados; o inverso ocorreu com *F. brachygibbosum*. A espécie *F. oxysporum* foi a mais freqüente nos solos pesquisados e com maior variabilidade em relação a fatores climáticos. *Fusarium solani*, *F. equiseti* e *F. brachygibbosum* foram isolados de solos de zonas subtropicais e temperadas. *Fusarium equiseti* e *F. brachygibbosum* predominaram em locais com menor incidência de chuvas, *F. solani* foi mais freqüente em áreas úmidas ou irrigadas. *Fusarium flocciferum*, *F. acuminatum* e *F. arthrosporioides* predominaram em solos mais secos, em zonas temperadas.

Segundo Bedendo (1995), doenças vegetais caracterizam-se pela interação entre o hospedeiro (planta suscetível), o patógeno e o ambiente. Fatores ambientais, como clima (umidade, temperatura, luz e vento), solo (nutrientes, pH) podem predispor plantas à ação de patógenos. Tanto os macro como os micronutrientes podem influenciar na interação. Excesso de nitrogênio pode favorecer o patógeno, devido ao aumento da suculência em tecidos e, prolongar o período vegetativo. A deficiência do nitrogênio faz com que a planta se torne menos vigorosa e mais suscetível a doenças. A forma de utilização do nitrogênio (amônio ou nitrato) pode favorecer certos patógenos e ainda pode interagir com o pH do solo, fazendo com que certas doenças, em solo com nitrogênio amoniacal e pH ácido, tornem-se mais severas, enquanto que outras doenças são mais favorecidas em solo com nitrogênio, sob a forma de nitrato e pH neutro a alcalino. O fósforo pode aumentar ou diminuir a severidade da doença, conforme a planta e o patógeno envolvidos, já o excesso de potássio desfavorece a doença. O pH ácido favorece as doenças causadas por fungos; já o pH neutro ou levemente alcalino, as doenças bacterianas.

Conforme Abawi & Widmer (2000), as características de um solo pobre, como a alta compactação, a drenagem inadequada, o baixo teor de matéria orgânica e a baixa fertilidade aumentam a população de fungos causadores de doenças em raízes como *Fusarium*, *Pythium* e *Rhizoctonia*. Os autores citam ainda a necessidade de um manejo adequado, utilizando práticas culturais que melhorem as condições físicas e aumentem a diversidade da biota do solo, como alternativa para redução da incidência de fitopatógenos. A biota do solo é o componente que mais contribui para a qualidade e produtividade do mesmo. A atividade de microrganismos no solo inclui a decomposição de materiais orgânicos, mineralização de nutrientes, fixação de nitrogênio, supressão de pragas e doenças, proteção de raízes, também parasitismo e injúria de plantas. A produção de vegetais e outros alimentos é, muitas

vezes, afetada por patógenos habitantes de solo, os quais requerem controle. A incidência e a severidade das doenças de raízes é um instrumento de avaliação indireta da saúde do solo. Todas as plantas de importância econômica podem ser danificadas por uma ou mais doenças que limitam muito o potencial e a qualidade do produto.

Purohit et al. (2002) relataram que os diferentes grupos funcionais que compõem as comunidades microbianas do solo são responsáveis pela produtividade e a saúde dos sistemas agrícolas. Os autores avaliaram, durante dois anos, o efeito de duas áreas, em zona árida da Índia, sobre a população fúngica do solo. Eles constataram que a biomassa fúngica foi, significativamente, maior em áreas com árvores de *Prosopis cineraria* do que em áreas descobertas.

Pandey et al. (2001) verificaram a presença de fungos, como *Trichoderma pseudokoningii*, *T. koningii*, *Penicillium erythromellis*, *P. janthinellum*, *P. raistickii*, na rizosfera de plantas arbustivas de chá, em várias localidades da Índia. Houve maior variação sazonal para *Penicillium* spp. do que para *Trichoderma* spp. As populações de *Trichoderma* e *Penicillium* apresentaram correlação inversa com as populações de *Bacillus subtilis* e *B. mycoides*, bactérias dominantes na rizosfera das plantas. Essas bactérias têm apresentado antagonismo aos dois fungos *in vitro*, o que foi confirmado, *in situ*, pelos autores.

Hackl et al. (2005) citaram que os microrganismos do solo são componentes essenciais dos sistemas bióticos como florestas naturais, onde eles são a chave da renovação de nutrientes. Muitos processos microbianos são interativos, dependendo da atividade de outras espécies. Diferentes grupos funcionais de microrganismos respondem, diferentemente, às condições ambientais que prevalecem, e as características do local (como propriedades do solo e da vegetação) influenciam na composição da comunidade microbiana do solo.

Segundo Bronick & Lal (2005), a estrutura do solo pode ser significativamente modificada através de práticas de manejo e mudanças ambientais. Práticas que aumentam a produtividade e diminuem a ruptura do solo, aumentando a agregação e, desenvolvimento estrutural. A rizosfera tem uma grande população de macro e microrganismos que contribui na formação do carbono orgânico do solo e sua agregação. Quimicamente as raízes aumentam a agregação por liberarem uma série de compostos, os quais têm efeito de cimentação das partículas do solo.

Segundo Bailey & Lazarovits (2003), práticas agrícolas como a incorporação de resíduos orgânicos corrigidos, e compostos ricos em nitrogênio podem reduzir as doenças veiculadas pelo solo por, liberar aleloquímicos gerados durante a estocagem ou, por subsequente decomposição microbiana. A supressão da doença por introdução de conteúdos orgânicos e resíduo da colheita leva tempo, mas os benefícios se acumulam através dos anos promovendo a estrutura e saúde do solo. Benefícios subsequentes podem ser obtidos com: a rotação de cultura; a escolha do tipo de cultura para reduzir o inóculo do patógeno e, a sobrevivência do mesmo no solo; essas práticas privam os patógenos do hospedeiro e criam condições para o crescimento de outros microrganismos às expensas do patógeno.

Celar (2003) averiguou o papel da competição por nitrogênio, nas interações entre fungos antagonistas e fitopatogênicos. Cinco fungos fitopatogênicos foram utilizados no experimento, três *Fusarium* spp. (*F. solani*, *F. sambucinum* e *F. moniliforme*), *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*, e quatro *Trichoderma* spp. (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum*, *T. viride* e *T. koningii*). Comparado com o fungo fitopatogênico, em muitos casos, o fungo antagonista usou altas taxas de nitrogênio como amônia nos primeiros seis dias de cultivo. Após os primeiros dias de cultivo, o antagonista trocou a fonte de nitrogênio para nitrato. Em contraste, *Fusarium* spp. usaram uma quantidade de nitrato significativamente maior do que o antagonista. *Rhizoctonia solani* e *S. sclerotiorum* utilizaram primeiro amônia e, quando este ficou limitado, trocaram para nitrato. As espécies de *Fusarium* utilizaram duas fontes de nitrogênio ao mesmo tempo. Se a única variável considerada fosse o nitrogênio, *Fusarium* spp. teriam relativa vantagem sobre o antagonista por serem hábeis em utilizar ambas as formas do nitrogênio, simultaneamente.

Cabello & Arambarri (2002) isolaram microfungos da rizosfera de uma floresta nativa não perturbada e de outra floresta perturbada. Cinquenta e quatro taxa foram isolados: 49 do solo de floresta não perturbada e 37 do solo de floresta perturbada. *Acremonium* sp., *Aspergillus ustus*, *Coemansia pectinata*, *Doratomyces stemonitis*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Gliocladium roseum*, *Humicola fusoides*, *Metarhizium anisopliae*, *Mortierella* sp., *Penicillium lilacinum*, *P. frequentans*, *Trichoderma harzianum*, e *T. koningii*, mostrando alta freqüência, em ambas as florestas, perturbada e não perturbada. No solo da floresta não perturbada o índice de biodiversidade foi 3,97 e no solo perturbado foi 3,89. O número de colônias, no solo

da área não perturbada, foi duas vezes maior do que na perturbada. *Beauveria bassiana*, *Volutella ciliata* e *Wardomyces inflatus* foram isolados, exclusivamente, da floresta não perturbada. Já, os fungos isolados exclusivamente na floresta perturbada foram, *Arthrobotrys oligospora*, *Cladosporium cladosporoides*, *Cunninghamella elegans*, *Humicola grisea*, e *Thielavia terricola*.

Ulacio et al. (1997) verificaram a microbiota de raízes, rizoplane, rizosfera e solo em plantas de fumo adultas, provenientes de duas áreas distintas da Venezuela. Isolaram alta proporção de colônias de *Fusarium* (*F. solani*, *F. moniliforme*, *F. roseum*), predominando *F. solani*, principalmente, do rizoplane de ambas as áreas. Também foram isoladas várias espécies de *Aspergillus* presentes na rizosfera e rizoplane nas duas áreas (*A. niger*, *A. ustus*, *A. terreus*, *A. flavus*). *Sclerotium rolfsii* e *F. oxysporum* foram isolados das raízes enfermas provenientes de uma das áreas. Segundo os autores, *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp., têm alta capacidade de colonização da rizosfera e que as estruturas de reprodução dos mesmos são abundantes no solo.

A partir das hipóteses de que áreas de agricultura intensiva favoreçam a ocorrência de fungos fitopatogênicos e de que a frequência dos fungos fitopatogênicos difere com relação às áreas analisadas dentro de uma mesma localidade, foi avaliado o efeito de diferentes ecossistemas (área de produção agrícola, área de influência humana moderada ou reduzida e área natural) sobre a ocorrência de fungos habitantes de solo rizosférico.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Local de coleta

As amostras foram coletadas de maneira sistemática, em uma propriedade rural situada na cidade de Venâncio Aires, RS (29°60'63"S e 52°19'19"O e altitude de 210m). O solo é do tipo Argissolo Vermelho-Amarelo aluminico alissolico – PVAa 2, pertencendo a Unidade Vera Cruz (EMBRAPA – CNPS, 1999). A propriedade de 5 hectares está dividida em três áreas, como segue.

Área 1, de 2 hectares, com mata nativa, destinada à reserva. A mata apresenta-se em um estágio secundário de regeneração, tendo como espécies predominantes no estrato arbóreo a guajuvira (*Patagonula americana* L.), o jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), o camboatá-vermelho (*Cupania*

vernalis Camb.) e a canela-fedorenta (*Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez.). No estrato das arvoretas, ocorrem, com mais frequência, o chal-chal (*Allophylus edulis* (A. St.-Hil.) Radlk.), topete-de-cardeal (*Calliandra tweediei* Benth.), e os catiguás (*Trichilia elegans* A. Juss. e *T. claussenii* C. DC.). Criciúma (*Chusquea* sp.), café-do-mato (*Psychotria cf. carthagenensis* Jacq.) e flor-de-fogo (*Ruellia angustifolia* Sw.) são as espécies mais comuns no estrato arbustivo. Em meio a essas, existem alguns cipós como a rapa-canela (*Byttneria australis* A. St. Hil.), cipó-escada-de-macaco (*Bauhinia macrostachya* (Raddi) Macbride) e o esporão de galo (*Celtis cf. tala* Gill. ex Planch.) (De Marchi, 2005, comunicação pessoal).

Área 2, de meio hectare, adjacente à cultivada onde predominam algumas plantas invasoras (ervas daninhas), como: leitera (*Euphorbia heterophylla* L.); milhã (*Digitaria horizontalis* Willd.); papuã (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.); corda de viola (*Ipomea grandifolia* (Dammer) O'Don.); picão preto (*Bidens pilosa* L.); maria pretinha (*Solanum americanum* Mill.); trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.); poaia-branca (*Richardia brasiliensis* Gomez), guanxuma (*Sida rhombifolia* L.) e plantas não cultivadas como uva-do-japão (*Hovenia dulcis* Thunb.). As plantas invasoras foram identificadas segundo Benetti (2004, comunicação pessoal) e Lorenzi (1994).

Área 3 de 1 hectare, a partir de 2002, destina-se ao cultivo de fumo e, nas entre safras, de milho. Anteriormente essa área era utilizada para cultivo apenas de milho. No ano de 2004, não foi plantado milho devido à estiagem e, em 2005, o milho plantado, devido à estiagem, foi utilizado como pasto para os animais. As mudas de fumo foram transplantadas em agosto, com o solo previamente, arado e adubado com 800 kg de NPK (10:16:18) e 500 kg de salitre. Na lavoura não foram utilizados fungicidas, somente os inseticidas a base de Acefato e Imidacloprid.

O fumo cultivado foi do tipo Virgínia, sendo que, as cultivares utilizadas foram RG-8 em 2003 e 2004 e em 2005 a cultivar K-326, esta última resistente a nematóides. As mudas foram produzidas pelo sistema *float* com *Trichoderma* spp. adicionado ao substrato, na proporção de 2 g/kg de substrato. Os fungicidas utilizados no *float* foram à base de iprodione e propineb. O milho cultivado na área foi o híbrido precoce AG 122, moderadamente tolerante à fusariose, *Physopella zea*, *Phaeosphaeria maydis* e a doenças de colmo e tolerante à *Peronosclerospora sorghi*, *Helminthosporium turcicum* e *H. maydes*, *Cercospora* sp. e doenças de grãos (EMBRAPA-CNPMS, 2006).

É importante salientar que existe um pequeno declive do solo da mata em direção às áreas intermediária e lavoura, portanto não há possibilidade de solo da lavoura chegar até a mata com água da chuva.

4.2.2. Amostragem

As amostras foram coletadas, sistematicamente a cada 10 m, ao longo de transectos de 30 m, em cada área. As coletas foram realizadas nos meses de janeiro (antes do final da colheita do fumo), maio (época do cultivo de milho), setembro (após o transplante do fumo para a lavoura) e novembro (fase adiantada do cultivo de fumo) de 2004 e de 2005. Portanto, na primeira coleta o fumo que se encontrava na lavoura era do cultivo de 2003. Foram coletadas, amostras de 500 g de solo junto às raízes (rizosfera) até a profundidade de 20 cm, misturadas e dessa amostra composta colocados 500 g em sacos plásticos, etiquetados e transportados ao laboratório de Microbiologia Fitopatológica do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia, UFRGS.

Na área de mata nativa foram coletadas amostras de solo junto às raízes de guajuvira, na área intermediária junto às raízes de uva-do-japão e na lavoura junto às raízes de fumo ou de milho, sendo que esse último só, na coleta de maio de 2005.

4.2.3. Isolamento de fungos filamentosos de solo rizosférico

Foram pesados 10 g de cada amostra composta e homogeneizados com 90 mL de água destilada esterilizada; a partir desta suspensão, foram realizadas diluições seriadas até 10^{-3} . A partir da última diluição, foi inoculado 0,1 mL, em placa, (cinco placas por amostra), contendo meio de cultura sólido de batata-dextrose ágar, BDA (Batata 200 g, dextrose 20 g, ágar 15 g, pH 6). O inóculo foi espalhado com alça de Drigalsky. As placas foram incubadas a $26 \pm 1^\circ \text{C}$ e, após oito dias, os fungos filamentosos foram repicados para obtenção de culturas axênicas, para posterior identificação (Thangavelu et al., 2004).

A partir das culturas axênicas foram obtidas culturas monospóricas para os fungos que esporularam e de fragmentos de hifas para os fungos que não esporularam. Suspensões de esporos ou fragmentos de hifas foram semeados em ágar-água e após 24 horas os tubos germinativos foram transferidos para placas contendo BDA e, incubadas a $26 \pm 1^\circ \text{C}$ durante oito dias Summerell et al. (2003).

Os fungos de micélio estéril foram inoculados nos meios V-8 (extrato de tomate 200 mL, CaCO_3 3 g, ágar 20 g, pH 6,0), ágar de farinha de milho (farinha de milho amarelo 60 g, ágar 15 g, pH 6,0), ágar de farinha de aveia (farinha de aveia 100 g, ágar 15 g, pH 6,0), pois segundo Fernandez (1993), fungos que não esporulam em outros meios, freqüentemente esporulam nesses.

O restante das amostras de solo foi encaminhado ao laboratório de análises de solo da UFRGS, para análises físico-químicas.

4.2.4. Identificação dos fungos

Os fungos foram classificados de acordo com suas características morfológicas, como cor (segundo Rayner, 1970) e textura das colônias (conforme Onions et al., 1981). Após, foram preparadas lâminas com solução de floxina (Floxina 1 g, água destilada 100 mL). Sobre a lâmina, foi depositada uma gota da solução de hidróxido de potássio 3 % mais uma gota da solução de floxina e, com agulha de níquel-cromo esterilizada, foram transferidos esporos e hifas para a lâmina, cobertos com lamínula e observados ao microscópio, no aumento 400x. Os fungos foram identificados com auxílio de chaves (Segundo Booth 1971; Onions et al., 1981; Gams e Bissett, 1998). As culturas axênicas dos fungos foram mantidas em tubos, contendo BDA e conservadas em geladeira.

4.2.5. Análises físico-químicas de solo

As amostras de solo rizosférico, foram encaminhadas ao laboratório de análises de solo da UFRGS, para a realização das análises de micro e macronutrientes, umidade, pH, matéria orgânica e granulometria.

4.2.6. Análise dos dados

Para avaliar a similaridade entre as áreas de estudo com relação aos fungos rizosféricos foi utilizada a análise de agrupamento hierárquico, pelo método das ligações médias e a distância euclidiana como índice de similaridade (dissimilaridade). E para avaliar o efeito de fatores abióticos como: umidade, pH, matéria orgânica, nitrogênio, carbono, fósforo, potássio, e cálcio do solo foi utilizada uma análise de correlação de Pearson. Para as duas análises citadas foi utilizando o programa computacional SPSS 10.0.

A frequência absoluta dos fungos rizosféricos de maior abundância nas três áreas foi comparada pelo teste do qui-quadrado (χ^2), a diversidade dos fungos de solo rizosférico das três áreas de estudo foi avaliada através do índice de diversidade de Shannon-Wiener, e comparados pelo Teste-t, utilizando o programa computacional Quantan versão 1997.

O índice de Shannon-Wiener (H), combina os componentes riqueza e uniformidade e atribui um peso maior às espécies raras, expressa a importância relativa de cada espécie e não apenas a proporção entre espécies e indivíduos. O índice de Shannon, como ficou consagrado, é relativamente independente do tamanho da amostra e representa uma distribuição normal, desde que, N seja um número inteiro (Odum, 1988 e Matos et al., 1999).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2, encontram-se as características morfológicas das colônias (textura e cor) e tipo de micélio dos fungos filamentosos isolados do solo rizosférico das três áreas de estudo. Os fungos de micélio estéril (*Mycelia sterilia*) não formaram estruturas de frutificação em nenhum dos meios de cultura utilizados (BDA, ágar V-8, ágar de farinha de milho e ágar de farinha de aveia), portanto foram classificados em cinco morfotipos.

Tabela 2 Fungos rizosféricos isolados de amostras coletadas nas áreas, A1 (mata), A2 (intermediária) e A3 (lavoura), durante os anos de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Fungos	Cor	Textura	Micélio
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht	Branco, Rosa claro, Vináceo ou púrpura, verso branco, púrpura ou vináceo	afeltrada	Septado, hialino
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	Creme, verso creme	aveludada	Septado, hialino
<i>Fusarium semitectum</i> Berk. & Ravenel	Branco, pêssego, verso pêssego	afeltrada	Septado, hialino
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	Verde amarelado para verde escuro verso incolor ou amarelo	algodonosa	Septado, hialino
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	Verde escuro ou azulado, verso incolor	algodonosa	Septado, hialino
<i>Trichoderma viride</i> Pres. ex S.F.	Verde azulado, verso amarelado		Septado, hialino
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	Verde escuro, verso púrpura	aveludada	Septado, hialino
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	Verde acinzentado, verso amarelo ou alaranjado	aveludada	Septado, hialino
<i>P. simplicissimum</i> (Oudemans) Thom	Verde azulado, verso amarelo pálido	algodonosa	Septado, hialino
<i>Penicillium frequentans</i> (Wehmer) Westling	Verde claro verso amarelado	aveludada	Septado, hialino
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	Lilás acinzentada, verso bege	algodonosa	Septado, hialino
<i>Paecilomyces</i> sp.	Rosa escuro, verso amarelado	aveludada	Septado, hialino
<i>Cladosporium cladosporoides</i> (Fresen) de Vries	Verde musgo, verso preto	aveludada	Septado, escuro
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	Verde azulado, verso verde	afeltrada	Septado hialino
<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem	Preto, verso bege a incolor	aveludada	Septado hialino
<i>Geotrichum candidum</i> Link	Branco a creme, verso branco	cremosa	Septado, hialino
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenberg ex Fr.) Lindner	Cinza escuro, verso cinza	algodonosa	Cenocítico, castanho
<i>Mucor racemosus</i> Fresenius	Castanho acinzentado, verso cinza	algodonosa	Cenocítico, castanho
<i>Mycelia sterila:</i>			
Morfotipo 1	Amarelo, verso branco	aveludada	Septado, hialino
Morfotipo 2	Preto úmido, verso preto	aveludada	Septado, escuro
Morfotipo 3	Cinza claro, verso cinza	aveludada	Septado, hialino
Morfotipo 5	Branco, verso branco	algodonosa	Septado, hialino
Morfotipo 7	Marrom, verso bege	afeltrada	Septado, hialino

A frequência absoluta dos fungos isolados nas áreas A1 (mata natural), A2 (área intermediária) e A3 (lavoura) durante o ano de 2004 e 2005 encontra-se, na tabela 3.

Tabela 3 Fungos de solo rizosférico coletados nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS

Fungo	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04			Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
<i>Fusarium oxysporum</i>	9	1	2	5	0	3	4	0	2	2	3	2	2	0	20	0	0	2	2	7	26	24	4	3
<i>Fusarium solani</i>	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	3	3	0	4	12
<i>Fusarium semitectum</i>	2	2	0	4	1	0	10	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	3	0	0	8	1	0	2
<i>Trichoderma harzianum</i>	0	0	1	0	17	2	10	2	5	0	4	4	0	0	1	0	9	0	0	13	0	10	13	10
<i>Trichoderma koningii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	0	0	0	0	11	15	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma viride</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0
<i>Penicillium purpurogenum</i>	6	70	13	2	2	0	3	5	3	0	0	0	4	0	0	26	9	2	4	7	8	0	0	0
<i>Penicillium citrinum</i>	13	2	2	36	10	2	10	0	14	2	0	0	0	3	1	0	0	0	15	0	0	1	1	3
<i>P. simplicissimum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
<i>Penicillium frequentans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	12	5	0	0	0	0
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	12	1	0	3	0	0	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces sp.</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium cladosporoides</i>	2	3	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	7	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<i>Geotrichum candidum</i>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	12	0	0	0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Mucor racemosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
Morfotipo 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	2	2	2
Morfotipo 2	9	3	0	1	2	0	2	0	0	1	4	0	0	4	0	20	16	3	0	0	2	0	0	0
Morfotipo 3	0	12	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	4	0	0	0	0	7	0	0	1	0	0
Morfotipo 5	1	2	0	0	2	6	0	0	0	2	2	3	0	0	5	8	0	0	15	8	8	0	0	0
Morfotipo 7	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Colônias	56	96	19	54	36	13	42	7	25	13	28	16	42	16	47	54	38	32	72	47	115	40	27	33

Os fungos que ocorreram com maior frequência na área 1 foram: *Penicillium citrinum* (20,6%), *Fusarium oxysporum* (12,9%), *P. purpurogenum* e *Trichoderma koningii* (12,6% cada um), fungos de micélio estéril de morfotipo 2 (8,9%) e morfotipo 5 (7,0%) e ainda *T. harzianum* (5,4%). Na área 2 foram *P. purpurogenum* (31,5%), *T. harzianum* (19,7%), fungo de micélio estéril de morfotipo 2 (9,8%) e morfotipo 3 (6,4%), *P. citrinum* (5,4%) e *F. oxysporum* (5,1%). Na área 3, *F. oxysporum* (20,0%), *T. viride* (13,3%), *P. purpurogenum* (8,6%), *T. harzianum* (7,6%), *P. citrinum* e fungo de micélio estéril morfotipo 5 (7,3% cada um), *F. semitectum* e *F. solani* (6,6% e 6,0% respectivamente).

Paecilomyces lilacinus e *Paecilomyces* sp. não ocorreram na área 3, enquanto que *A. fumigatus* e *P. simplicissimum* só ocorreram na área 3 (em uma coleta).

A figura 1 mostra o dendrograma relativo à similaridade das áreas segundo as espécies de fungos isoladas. Comparando-se as três áreas, as maiores similaridades com relação aos fungos são encontradas entre as áreas 2 e 3. Essas áreas são adjacentes e na época do plantio de milho algumas plantas invasoras da área intermediária (área 2) alcançam à lavoura (área 3). Para chegarem até a lavoura os trabalhadores passam pela área 2, inclusive com os equipamentos, portanto, podem veicular fungos de uma área a outra. A água da chuva também pode levar solo da área 2 para a área 3, devido à declividade do terreno.

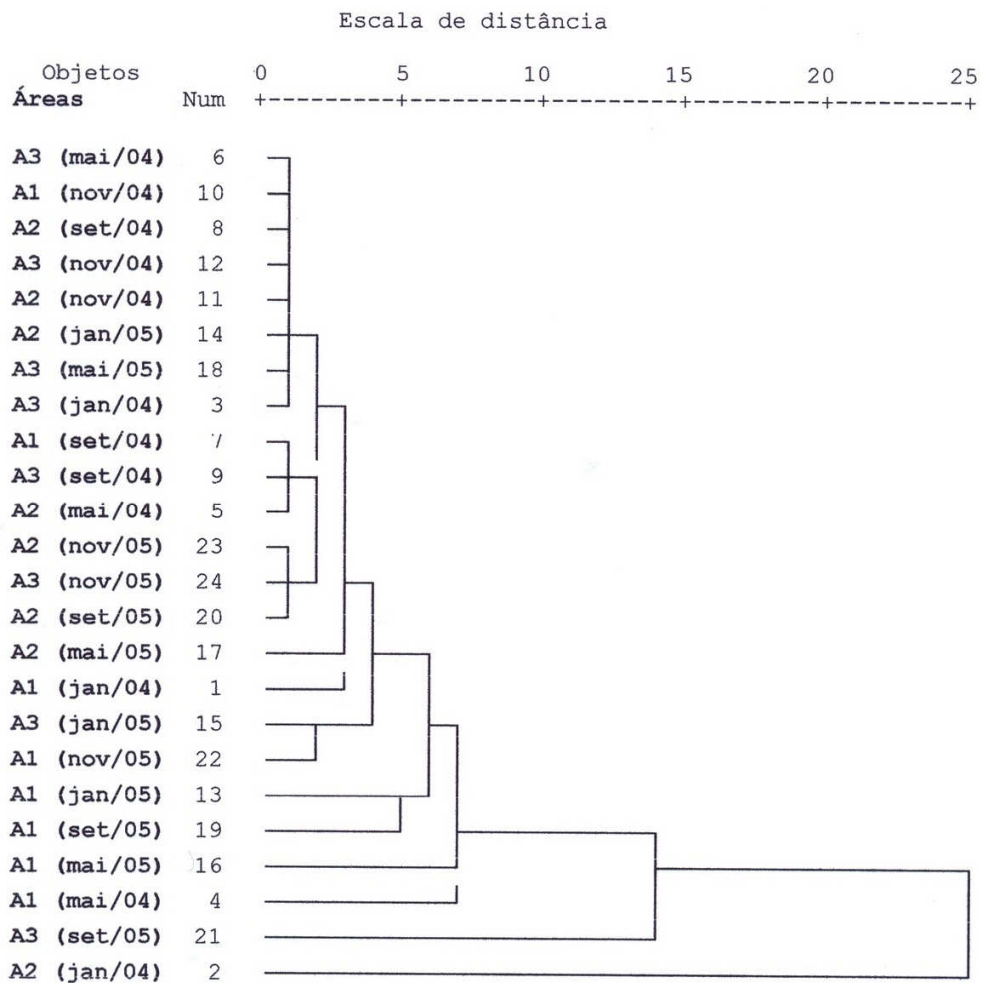


Figura 1 Dendrograma obtido da análise de agrupamento hierárquico (ligação média entre grupos) utilizando as variáveis fungos rizosféricos, isolados das áreas: A1 (mata natural), A2 (Intermediária) e A3 (lavoura) a partir das coletas de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Distância Euclidiana.

4.3.1. Diversidade de fungos

Nas tabelas 4 e 5, encontram-se os resultados de abundância, número de espécies e índice de diversidade dos fungos rizosféricos isoladas em meio BDA a partir dos fragmentos de raízes coletadas nas três áreas de estudos.

Na área 1 (mata nativa), a maior diversidade foi observada em janeiro e novembro de 2004, embora, tenha ocorrido dominância de *Penicillium citrinum* e *Paecilomyces lilacinus* em janeiro de 2004, também o número de espécies, bem como a abundância foram maiores nesse período. Já a menor diversidade foi observada em janeiro e maio de 2005. Em janeiro de 2005 ocorreu dominância de *Trichoderma koningii*. Em maio de 2005, ocorreu a maior dominância de *Penicillium purpurogenum* e fungo de micélio estéril de morfotipo 2, sendo este mês o que apresentou ainda, a menor riqueza de espécies. Na área 2 a maior diversidade foi observada em novembro de 2004, onde também ocorreu o maior número de espécies. Já a menor diversidade foi observada em setembro de 2004, com a menor abundância e menor riqueza de espécies e em janeiro de 2004, embora, tenha apresentado a maior abundância e, riqueza de espécies, semelhante a novembro de 2004 essa área teve dominância de *P. purpurogenum* e do fungo de micélio estéril de morfotipo 3. Na área 3 a maior diversidade ocorreu em setembro de 2005, embora, tenha ocorrido dominância de *Trichoderma viride*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum* e fungo de morfotipo 5, a mesma foi compensada pela abundância e riqueza de espécies. Já a menor diversidade ocorreu em janeiro e setembro de 2004, com dominância de *P. purpurogenum* em janeiro e *P. citrinum* em setembro de 2004.

Tabela 4. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener) para os fungos isolados de solo rizosférico das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2004. Venâncio Aires, RS

	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
N (nº total de colônias fungicas)	56	96	19	54	36	13	42	7	25	13	28	16
S (riqueza de espécies)	9	9	5	7	7	4	8	2	5	8	9	4
H' (diversidade de Shannon-Wiener)	2,77	1,50	1,50	1,73	2,09	1,83	2,62	0,86	1,77	2,87	3,05	1,84

Tabela 5. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener) para os fungos isolados de solo rizosférico das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2005. Venâncio Aires RS

	Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
N (nº total de colônias fungicas)	42	16	47	54	38	32	72	47	115	40	27	33
S (riqueza de espécies)	7	4	8	3	4	8	8	7	10	7	7	10
H' (diversidade de Shannon-Wiener)	1,55	1,97	2,25	1,44	1,85	2,64	2,69	2,66	2,73	1,69	2,23	2,32

Quando foram comparados os índices de diversidade de Shannon-Wiener das três áreas ao longo dos dois anos de coleta, a diversidade não diferiu significativamente no Teste-t ($p=0,05$) (Tabela 6). A abundância, a riqueza e a diversidade das espécies fúngicas isoladas, no presente trabalho não sofreram a ação da sazonalidade, o que também foi observado nos agrupamentos por similaridade. Provavelmente os resultados obtidos se devam ao fato de que as três áreas estão localizadas na mesma região, portanto sujeitas aos mesmos fatores climáticos como temperatura e precipitação. No entanto, a ocorrência de *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp. foi influenciada pelas áreas (Tabela 7). *Fusarium* spp. pode ter sido influenciado pelos tratos culturais da área 3, pois segundo Wilberforce et al. (2003), sua distribuição é facilitada pela aração do solo.

Tabela 6. Comparação entre as áreas segundo o índice de diversidade de Shannon para os fungos de solo rizosférico, isolados nas três áreas (mata, área intermediária e lavoura) nos anos de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Áreas	Índice de Shannon*	Interação	Variância	Teste t
A1	2,17 a	A1 x A2	0,416	0,445
A2	2,02 a	A1 x A3	0,288	0,223
A3	2,11 a	A2 x A3	0,323	0,294

Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem significativamente no Teste -t ($\alpha = 0,05$); gl = 7

* valores médios

$t_{0,05; 7} = 2,36$

Tabela 7. Frequência absoluta de fungos de solo rizosférico de maior ocorrência nas áreas A1 (mata), A2 (intermediária) e A3 (lavoura) isolados das coletas de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Fungos	Área 1	Área 2	Área 3
<i>Fusarium oxysporum</i>	48 a	15 b	60 a
<i>Fusarium semitectum</i>	17 a	3 b	20 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	20 b	58 a	23 b
<i>Trichoderma koningii</i>	45 a	-	11 b
<i>Penicillium purpurogenum</i>	45 b	93 a	26 c
<i>Penicillium citrinum</i>	77 a	16 b	22 b
Morfotipo 2	33 a	29 a	5 b
Morfotipo 5	26 a	14 b	22 ab
* <i>Fusarium</i> spp.	67 b	27 c	98 a
* <i>Trichoderma</i> spp.	65 a	58 a	74 a
* <i>Penicillium</i> spp.	137 a	114 a	52 b

Números seguidos por letras distintas na linha diferem entre si, $p = 0,05$, pelo teste do X^2

* somadas todas as espécies desses gêneros.

Adler & Lew (1995) verificaram a distribuição de espécies de *Fusarium* em solos cultivados e solos não cultivados. As espécies mais representativas foram *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani*, *F. brachygibbosum* e *F. flocciferum*. Os fungos *F. oxysporum* e *F. solani* ocorreram com maior frequência em solos cultivados do que em solos não cultivados. O fungo *F. oxysporum* foi o mais freqüente nos solos pesquisados e com maior variabilidade em relação a fatores climáticos. Já *F. solani* foi mais freqüente em áreas úmidas ou irrigadas. Os resultados obtidos pelos autores acima citados concordam em parte com os resultados obtidos no presente trabalho, onde *F. oxysporum* foi um dos fungos mais freqüentes nos solos pesquisados, porém ocorreu também com alta freqüência no solo da mata natural. Já *F. solani*, teve maior ocorrência nas áreas 2 e 3, com apenas uma ocorrência para a área 1, concordando, assim, com os resultados obtidos pelos autores acima citados. A dominância de *Penicillium citrinum*, *P. purpurogenum* e *T. koningii* no solo da mata e de *P. purpurogenum* na área 2 concordam em parte com os resultados encontrados por Pandey et al. (2001), que verificaram a dominância de fungos como *T. pseudokoningii*, *T. koningii*, *Penicillium erythromellis*, *P. janthinellum* e *P. raistickii*, na rizosfera de plantas arbustivas de chá, em várias localidades da Índia.

No presente trabalho, embora a freqüência absoluta de *Trichoderma* spp. tenha sido maior na área 3, não diferiu estatisticamente entre as áreas (Tabela 7). Na área 3 (lavoura) *Trichoderma* spp. vêm sendo introduzidas, anualmente através das mudas, pois em seu trabalho Weller (2004), observou a presença do fungo junto à rizosfera de mudas de fumo após 60 dias no float, período de transplante das mesmas para a lavoura. A freqüência de *Trichoderma* spp. observada no presente trabalho demonstrou que mesmo sendo introduzido no ambiente esse fungo se mantém em equilíbrio com as demais espécies presentes no solo. Segundo Kubicek et al. (2003), *Trichoderma* spp. é um fungo de rápido crescimento, com capacidade de utilização de diversos substratos e resistência para produtos químicos nocivos. Ocorre em vários solos como agrícola, campina, floresta, pântano salgado e solos desérticos em todas as zonas climáticas. São decompositores de madeira, de materiais herbáceos e necrotróficos de decompositores primários. Para Harman et al. (2004), a colonização da rizosfera, por *Trichoderma* spp., promove o crescimento de raízes e aumenta a produtividade, a resistência a estresses abióticos e a utilização de nutrientes. Segundo os autores, os fungos considerados competentes na rizosfera são

aqueles que possuem a habilidade de colonizar e crescer em associação com raízes de plantas, característica essa já avaliada em algumas espécies de *Trichoderma*.

4.3.2. Correlação entre fungos e variáveis abióticas

A dominância de *Trichoderma koningii* na área 1, em janeiro de 2005, teve correlação com o maior teor de matéria orgânica, ainda durante esse mês ocorreu a menor precipitação total (30,1 mm) e maior temperatura média (26,6° C). Já a dominância de *Penicillium purpurogenum* e do fungo de morfotipo 2 em maio de 2005, teve correlação inversa com o pH, isto é, o menor pH dessa área, favoreceu a ocorrência desses fungos. O fungo de morfotipo 5 teve correlação direta com a umidade. A precipitação total nesse mês foi de 181,2 mm e a temperatura média foi 16,1° C. A dominância de *P. citrinum* em janeiro e maio de 2004, teve correlação inversa com o teor de cálcio. Nesses meses a temperatura média foi de 25,8 e 17,1° C e a precipitação total de 46,6 e 101,9 mm respectivamente.

Na área 2, a dominância de *P. purpurogenum*, em janeiro de 2004, teve correlação positiva com o teor de fósforo e potássio dessa área e *P. citrinum* apresentou correlação inversa com o pH. Já a precipitação total foi 46,6 mm e a temperatura média foi 25,8° C.

Na área 3, em setembro 2005, a maior abundância dos fungos totais e a dominância de *F. oxysporum* e do fungo de morfotipo 5, mostraram correlação direta com a umidade do solo que foi a mais alta dessa área. A dominância de *T. viride* nesse período deve-se a introdução do mesmo através das mudas, pois a maioria dos bioformulados utilizados no substrato contém essa espécie de *Trichoderma*. A precipitação total nesse mês foi 201,4 mm e a menor temperatura média, 15,9° C. *Penicillium purpurogenum* teve correlação direta com o teor de matéria orgânica, fósforo e potássio e indireta com o carbono em janeiro e setembro de 2004, com temperaturas médias de 25,8 e 19,2° C, respectivamente, já a precipitação total foi de 46,6 e 205,1 mm respectivamente.

Vijaykumar & Narasimhain (1995) encontraram correlação positiva entre a população de fungos isolados de solo e a umidade do mesmo, a quantidade de carbono orgânico e de fósforo disponível.

4.3.3. Análises físico-químicas

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se verificar que, as características físico-químicas do solo nas três áreas foram de maneira geral favoráveis às exigências das plantas e dos microrganismos isolados do solo rizosférico nessas áreas. Nos parágrafos abaixo foram descritas as variáveis ambientais que apresentaram alguma correlação direta ou indireta com os fungos de maior ocorrência no solo rizosférico.

Segundo Tomé Jr (1997), o pH do solo (pH de um extrato aquoso do solo) é um índice que fornece o grau de acidez ou alcalinidade de um extrato aquoso do solo. É utilizado como indicativo das condições gerais de fertilidade do solo. O mesmo nos fornecerá indícios das condições químicas do solo. Para a classificação de pH em água na proporção 1:1 é considerado muito baixo $\text{pH} \leq 5,0$; baixo de 5,0 a 5,5; médio de 5,6 a 6,0 e alto $\geq 6,0$. Valores de pH abaixo de 4,5 e acima de 7,5 no solo, restringem bastante o crescimento das plantas, indicando pobreza em cálcio e magnésio, altos teores de alumínio, alta fixação de fósforo no primeiro caso e deficiência de micronutrientes e ou excesso de sais no segundo caso. No presente trabalho o pH do solo da área 1, variou de 5,4 a 5,8 (baixo a médio), na área 2 variou de 6,2 a 6,9 (alto) e na área 3 de 5,2 a 5,8 (baixo a médio) sendo que, em maio de 2004, o mesmo apresentou um valor de 6,2 (alto). Esses valores encontram-se dentro da faixa favorável ao crescimento das plantas

A classificação quantitativa de matéria orgânica nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, os quais utilizam a unidade antiga para expressar o teor de matéria orgânica é a seguinte: baixo: $\leq 2,5$ %, médio: 2,6 a 5,0 % e alto: $> 5,0$ % (Tomé Jr 1997). No presente trabalho os teores de matéria orgânica na área 1, variaram de 6,6 a 10,7 %; na área 2, de 4,4 a 7,9 % e na área 3, de 2,5 a 3,9 %.

O carbono orgânico no solo, na área 1, variou de 3,8 a 6,2, % (alto); na área 2, de 2,6 (médio) a 4,5 % (alto); na área 3, de 1,5 a 2,3 % (médio), pois segundo Tomé Jr. (1997), a classificação quantitativa para carbono orgânico nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul é a seguinte: baixo $\leq 1,4$ %; médio de 1,5 a 3,0 % e alto $> 3\%$.

Segundo Tomé Jr. (1997), com relação aos teores de fósforo disponíveis podem ser feitas somente as seguintes generalizações: a) para qualquer extrator, textura ou cultura um teor de fósforo menor que 3 mg/dm^3 será baixo; b) para o

extrator Resina independente da cultura, serão baixos os teores menores que 6 mg/dm^3 e altos os maiores que 60 mg/dm^3 ; c) para o extrator Mehlich, independente do tipo de solo e da cultura teores de P menores que 3 mg/dm^3 são baixos e altos teores acima de 30 mg/dm^3 . No presente trabalho foi utilizado o extrator Mehlich, sendo que na área 1, os teores de P variaram de 3,3 a $6,6 \text{ mg/dm}^3$ (médio), na área 2 de 1,4 (baixo) a 6,3 (médio) e na área 3, de 5,1 (médio) a 37 (alto).

De acordo com Tomé Jr. (1997), os teores de potássio, cálcio e magnésio trocáveis encontrados no presente trabalho para as três áreas de estudo estão altos.

Segundo Tomé Jr. (1997), não existe uma análise de solo para fornecer índices de nitrogênio disponível para as plantas. Pode-se calcular o N total com base no teor de matéria orgânica, sendo o teor de N = teor de matéria orgânica x 0,05, portanto a classificação do teor de N total pode ser a mesma adotada para os teores de matéria orgânica (porém sem valor agrônômico para previsão das disponibilidade desse nutriente para as culturas).

4.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As áreas estudadas influenciaram a ocorrência de fungos rizosféricos, principalmente de *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Trichoderma* spp.

Mesmo com a alta frequência de *F. oxysporum* as plantas das áreas de estudo, no presente trabalho não apresentaram sintomas de doenças causadas por esse fungo ou por outros fitopatógenos. A colonização da rizosfera por linhagens não patogênicas de *F. oxysporum* tem controlado raças patogênicas de *F. oxysporum* em várias culturas (Whipps, 2001). No entanto, *F. oxysporum* é considerado um patógeno oportunista, e pode vir a se tornar agressivo se ocorrer algum desequilíbrio. Vale ressaltar ainda que, uma raça patogênica pode perder ou ganhar essa característica por mutação, mas pode recuperar a mesma por processos naturais de recombinação somática como heterocariose e ciclo parassexual. Ainda segundo Azevedo (1999), por processos, mediados por elementos transponíveis, os transposons, que conseguem transferir genes dentro e entre espécies distintas naturalmente.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que: existe um equilíbrio entre os fungos potencialmente patogênicos e os antagonistas nas três áreas estudadas.

A presença de fungos antagonistas como *Trichoderma* spp. e *Penicillium* spp. (produtores de antibióticos) no solo rizosférico das áreas de estudo está relacionada ao equilíbrio encontrado nessas áreas.

CAPÍTULO IV

5. Comunidades fúngicas endofítica e epifítica em três Ecossistemas

5.1. Introdução

Os fungos podem habitar a superfície das plantas como epifíticos e também o interior das mesma como endofíticos. Segundo Azevedo (1998); Azevedo (1999); Peixoto-Neto et al. (2002) e Maccheroni Jr. et al. (2004), a distinção entre endofíticos, epifíticos e patógenos tem significado puramente didático. É difícil estabelecer os limites para discriminar cada categoria, não existe um claro limite entre grupos e sim um gradiente entre eles. Azevedo et al. (2000) ampliaram a definição de microrganismos endofíticos, para microrganismos que habitam o interior de tecidos vegetais sem causar danos ao hospedeiro e sem formar estruturas externas visíveis.

Fungos e bactérias endofíticos vivem em mutualismo com as plantas hospedeiras, recebendo nutrientes e produzindo compostos químicos, como enzimas, fitohormônios, alcalóides e antibióticos, entre outros, que protegem e auxiliam a planta em certas condições de estresse causadas por falta de água, presença de substâncias tóxicas, ataque de patógenos ou de insetos-praga; podem ainda produzir compostos de importância biotecnológica, como enzimas e fármacos (Azevedo, 1998; Azevedo et al. 2000; Peixoto-Neto et al., 2002; Maccheroni Jr. et al., 2004). Portanto, o conceito de microrganismos endofíticos, não se limita a posição dos mesmos em relação aos hospedeiros mas também a função que esses microrganismos exercem no interior do vegetal. Conforme Peixoto-Neto et al. (2002), diversos fungos endofíticos estão, taxonomicamente, relacionados a fitopatógenos dos mesmos hospedeiros. Um exemplo é o fungo endofítico

Guignardia mangiferae (Sin. *G. endophyllicola*), o qual é relacionado, filogeneticamente, a *G. citricarpa*, causador da mancha preta dos citros. Por outro lado, a mutação de um gene transformou uma linhagem patogênica de *Colletotrichum magna* em uma linhagem endofítica. Dependendo da raça fisiológica, *Fusarium oxysporum* pode ser isolado, como endofítico ou como patógeno, causador de murcha em tomate. A linhagem avirulenta pode ser utilizada para controlar a murcha, causada pela linhagem virulenta do *F. oxysporum*.

Os fungos epifíticos habitam a superfície da planta hospedeira e podem apresentar interação mutualística, impedindo a colonização por microrganismos patogênicos, ou ainda produzir substâncias que evitam a herbivoria por insetos e mamíferos. Nesse tipo de interação, o fungo também é beneficiado com os carboidratos exsudados pela planta. Fungos endofíticos podem, inicialmente, habitar a superfície da planta como epifíticos e, após algum tempo, penetrar através de estômatos ou ferimentos. Os fungos patogênicos também podem colonizar a superfície da planta e, posteriormente, causar a doença. A maioria dos fungos são saprófitas, porém alguns são parasitas, os quais afetam o desenvolvimento das plantas hospedeiras e podem causar a morte das mesmas. As populações microbianas do solo, do rizoplane e do filoplane e endofíticas interagem com as plantas. Os sistemas intensivos de produção agrícola podem causar desequilíbrio entre essas diferentes populações, favorecendo o estabelecimento e desenvolvimento dos fungos fitopatogênicos (Maccheroni Jr. et al., 2004). Os fungos fitopatogênicos constituem um amplo e heterogêneo grupo de microrganismos que desempenham importante função tanto na agricultura como nas comunidades naturais de plantas. Possuem uma grande variação em sua estratégia de vida e no modo pelo qual esses fungos interagem com seus hospedeiros. As estratégias de interação variam de infecções que podem levar o hospedeiro rapidamente à morte para uma discreta lesão cujo efeito individual é limitado (Burdon & Silk, 1997). Segundo Azevedo (1998), dependendo das condições ambientais ou interações com outros microrganismos, isolados patogênicos podem flutuar entre a colonização endofítica e não apresentar sintomas. Sendo assim, quando microrganismos endofíticos são isolados, pode-se estar isolando também um patógeno latente desse hospedeiro.

5.1.1. Fumo (*Nicotiana tabacum* L.)

Segundo Willani (2004), no Brasil o fumo é cultivado em pequenas propriedades. Como o cultivo ocorre ano após ano, nas mesmas áreas, a rotação de cultura tem sido insuficiente no que se refere ao manejo de doenças.

O sistema de produção de mudas de fumo usando a tecnologia *float*, constituído por bandejas de isopor, que flutuam em uma lâmina de água de 8 cm de altura, previamente fertilizada, representa quase que a totalidade de mudas atualmente produzidas. Além de eliminar o uso do Brometo de metila, na esterilização dos canteiros, essa técnica tem propiciado mudas de boa qualidade (Massola Jr. et al., 2005).

O fumo é semeado em maio, transplantado em agosto e setembro e colhido no período de dezembro a fevereiro. As mudas, após a semeadura levam cerca de 60 dias para atingir o tamanho necessário para o plantio, nessa fase o controle de pragas e doenças é intensivo. As mudas são transplantadas para a lavoura, já com a área adubada. A colheita das folhas é iniciada cerca de 60 dias após o plantio. Durante essa etapa, o crescimento deve ser monitorado e realizado o controle integrado de pragas e doenças, a retirada das flores para melhor desenvolvimento das folhas, aumentando, assim seu peso e qualidade (Deser, 2003).

Os principais tipos de fumo cultivados no Brasil, estão relacionados com a finalidade a que se destinam, sendo os mais representativos: Estufa (Virgínia e Amarelinho); Galpão (Burley, Comum, Maryland e Dark); Oriental (Izmir, Basma e Gavurkoy); Charuto (Brasil Bahia e Sumatra), Araparica (Araparica e suas seleções) e Corda (Tietê, Minas, Ouro de Minas e Goiano) (Massola Jr. et al., 2005).

Segundo Shew & Lucas (1991), as doenças resultam da interação entre patógenos, fatores ambientais e hospedeiros suscetíveis. Os patógenos do fumo incluem fungos, bactérias, vírus, nematóides e micoplasmas. O fumo é resistente a muitos patógenos que ocorrem na natureza. Entretanto, mais do que 50 organismos atacam essa planta e utilizam raízes, ramos ou folhas como fonte de alimento.

5.1.2. Doenças causadas por fungos e oomicetos em fumo

Shew & Lucas (1991) citam os seguintes fungos causadores de doenças em raízes e caules de plantas de fumo: *Phytophthora parasitica* Dastur var. *nicotianae* (Breda de Hann); *Pythium ultimum* Trow var. *ultimum* e *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *Thielaviopsis basicola* (Berk e Broome) Ferraris., *Sclerotium rolfsii*

Sacc. (teleomorfo: *Athelia rolfsii* (Cruzi) Tu & Kimbrough), *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk), *Fusarium oxysporum* Schlecht. ex Fr. f.sp. *nicotianae* (J. Johnson) W.C. Snyder & H. N. Hans., *Verticillium dahliae* Kleb., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, *Oplidium brassicae* (Woronin) P.M. Dang. e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Willani (2004) e Massola Jr. et al. (2005), destacam ainda o provável complexo de fungos causadores do amarelo principalmente em fumo do tipo Burley (*Phytophthora* spp., *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*, *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp.).

Embora existam vários estudos sobre fitopatossistemas agrícolas, os mesmos estão direcionados basicamente a determinadas culturas, visando o controle imediato dos fitopatógenos. Poucas são as pesquisas que buscam verificar se realmente determinados patógenos podem agir com maior ou menor intensidade nos diferentes ecossistemas e se a diversidade dos mesmos pode realmente ser alterada em função de modificações introduzidas no ambiente. O presente trabalho teve por finalidade verificar se diferentes ecossistemas podem interferir sobre a diversidade de fungos endofíticos e epifíticos e se esta interferência pode modificar a atuação de determinados fungos sobre os vegetais das áreas estudadas, isso é, verificar se ocorrem diferenças significativas entre diferentes ecossistemas (área de produção agrícola, área de influência humana moderada ou reduzida e áreas naturais) sobre a ocorrência de fungos endofíticos e epifíticos. Os resultados obtidos poderão servir de subsídios a programas de manejo de ecossistemas agrícolas, principalmente, aos fitopatossistemas.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Local de coleta

As amostras foram coletadas de maneira sistemática em uma propriedade rural situada na cidade de Venâncio Aires, RS, (29°60'63"S e 52°19'19"O e altitude de 210 m). O solo é do tipo Argissolo Vermelho-Amarelo aluminoso alissólico – PVAa 2, pertencendo a Unidade Vera Cruz (EMBRAPA–CNPS, 1999). A propriedade de 5 hectares está dividida em três áreas como segue.

Área 1, de 2 hectares, com mata nativa (destinada à reserva). A mata apresenta-se em um estágio secundário de regeneração, tendo como espécies

predominantes no estrato arbóreo a guajuvira (*Patagonula americana* L.), o jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), o camboatá-vermelho (*Cupania vernalis* Camb.) e a canela-fedorenta (*Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez.). No estrato das arvoretas ocorrem com mais frequência o chal-chal (*Allophylus edulis* (A. St.-Hil.) Radlk.), topete-de-cardeal (*Calliandra tweediei* Benth.), e os catiguás (*Trichilia elegans* A. Juss. e *T. claussenii* C.D.C.). Criciúma (*Chusquea* sp.), café-do-mato (*Psychotria cf. carthagenensis* Jacq.) e flor-de-fogo (*Ruellia angustifolia* Sw.) são as espécies mais comuns no estrato arbustivo. Em meio a essas, existe alguns cipós como a rapa-canela (*Byttneria australis* A.St. Hil.), cipó-escada-de-macaco (*Bauhinia macrostachya* (Raddi) Macbride) e o esporão de galo (*Celtis cf. tala* Gill. ex Planch.) (De March, 2005, comunicação pessoal).

Área 2, de meio hectare, adjacente à cultivada, onde predominam algumas plantas invasoras como: leitera (*Euphorbia heterophylla* L.), milhã (*Digitaria horizontalis* Willd.); papuã (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.); corda de viola (*Ipomea grandifolia* (Dammer) O'Don.); picão preto (*Bidens pilosa* L.); maria pretinha (*Solanum americanum* Mill.); trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.); poaia-branca (*Richardia brasiliensis* Gomez), guanxuma (*Sida rhombifolia* L.), sendo estas encontradas também na lavoura, e plantas não cultivadas como uva-do-japão (*Hovenia dulcis* Thunb.). As plantas invasoras foram identificadas segundo Benetti (2004, comunicação pessoal) e Lorenzi (1994).

Área 3 de 1 hectare, destinada ao cultivo de fumo e nas entre safras milho. No ano de 2004 não foi plantado milho devido à estiagem, e em 2005 o milho plantado ainda, devido à estiagem foi utilizado como pasto para os animais. As mudas de fumo foram transplantadas em agosto com o solo previamente adubado com 800 kg de NPK (10:16:18) e 500 kg de salitre. Na lavoura não foram utilizados fungicidas, somente os inseticidas a base de Acefato e Imidacloprid.

O fumo cultivado foi do tipo Virgínia sendo que as cultivares utilizadas foram RG-8 em 2003 e 2004 e em 2005 a cultivar K-326, esta última resistente a nematóides. As mudas foram produzidas pelo sistema *float* com um formulado de *Trichoderma* spp. adicionado ao substrato na proporção de 2 g/kg de substrato. Os fungicidas utilizados no *float* foram a base de Iprodione e Propineb. O milho cultivado na área foi o híbrido precoce AG 122, moderadamente tolerante a fusariose, *Physopella zea*, *Phaeosphaeria maydis* e a doenças de colmo e tolerante a

Peronosclerospora sorghi, *Helminthosporium turcicum* e *H. maydes*, *Cercospora* sp. e doenças de grãos (EMBRAPA-CNPMS, 2006).

É importante salientar que existe um pequeno declive do solo da mata em direção às áreas intermediária e lavoura, portanto não há possibilidade de solo da lavoura chegar até a mata com água da chuva.

5.2.2. Amostragem

As amostras foram coletadas, sistematicamente a cada 10 m ao longo de transectos de 30 m em cada área. As coletas foram realizadas nos meses de janeiro (antes do final da colheita do fumo), maio (época do cultivo de milho), setembro (após o transplante do fumo para a lavoura) e novembro (fase adiantada do cultivo do fumo) de 2004 e de 2005. Portanto, na primeira amostragem, as raízes de fumo coletadas foram do cultivo de 2003. Na área de mata nativa foram coletados fragmentos de raízes de guajuvira, na área intermediária raízes de uva-do-japão e na lavoura raízes de fumo e de milho, este último na coleta de maio de 2005. As amostras de segmentos finos de raízes dos vegetais foram colocados em sacos plásticos, etiquetados e transportados ao laboratório de Microbiologia Fitopatológica do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia, UFRGS.

5.2.3. Isolamento de fungos endofíticos e epifíticos de raízes

Pedaços de raízes foram lavados, separadamente, em água corrente. Os segmentos de, aproximadamente 8 cm, foram colocados, por 1 minuto, em álcool 70 %, transferidos por mais 2 minutos para solução de hipoclorito de sódio 3 %, mais 30 segundos para álcool 70 % e, então enxaguados duas vezes, em água destilada esterilizada. Alíquotas da última água de enxágüe foram plaqueadas em meio de BDA (Batata 200 g, dextrose 20 g, ágar 15 g, pH 6). Após a desinfestação as extremidades dos fragmentos foram cortadas e cinco pedaços de 1 cm de raízes foram depositados sobre o meio de cultura, em placas de Petri. O restante dos fragmentos (lavados em água corrente não desinfestados) foram cortados em pedaços de 1 cm cada e depositados em placas contendo o meio referido, para isolar fungos epifíticos. Os isolamentos foram realizados no máximo até 24 horas após a coleta do material. As placas foram incubadas a $26\pm 1^\circ$ C e, após oito dias, os fungos filamentosos foram repicados, para obtenção de culturas axênicas. (Araújo et al., 2002). A partir das culturas axênicas foram obtidas culturas monospóricas para os fungos que esporularam e de fragmentos de hifas para os fungos que não

esporularam. Suspensões de esporos ou fragmentos de hifas foram semeados em ágar-água e após 24 horas os tubos germinativos foram transferidos para placas contendo BDA, as placas foram incubadas a $26\pm 1^\circ$ C durante oito dias. A obtenção de culturas monospóricas é importante, pois segundo Summerell et al. (2003), é comum isolar mais do que uma espécie de fungos de porções individuais de plantas.

Os fungos de micélio estéril foram inoculados nos meios V-8 (extrato de tomate 200 mL, CaCO_3 3 g, ágar 20 g, pH 6,0), ágar de farinha de milho (farinha de milho amarelo 60 g, ágar 15 g, pH 6,0), ágar de farinha de aveia (farinha de aveia 100 g, ágar 15 g, pH 6,0), pois segundo Fernandez (1993) fungos que não esporulam em outros meios, freqüentemente esporulam nesses.

5.2.4. Identificação dos fungos

Os fungos foram classificados de acordo com suas características morfológicas, como cor (segundo Rayner, 1970) e textura das colônias (conforme Onions et al., 1981). Após, foram preparadas lâminas com solução de floxina (Floxina 1g, água destilada 100 mL). Sobre a lâmina, foi depositada uma gota da solução de hidróxido de potássio 3 % mais uma gota da solução de floxina e, com agulha de níquel-cromo esterilizada, foram transferidos esporos e hifas para a lâmina, cobertos com lamínula e observados ao microscópio, no aumento 400x. Os fungos foram identificados com auxílio de chaves (Booth 1971; Onions et al., 1981; Gams e Bissett, 1998). As culturas axênicas dos fungos foram mantidas em tubos, contendo BDA e conservadas em geladeira.

5.2.5. Análise dos dados

Para avaliar a similaridade entre as áreas de estudo com relação aos fungos endofíticos e epifíticos foi utilizada a análise de agrupamento hierárquico, pelo método das ligações médias e a distância euclidiana como índice de similaridade (dissimilaridade). E para avaliar o efeito de fatores abióticos como: umidade, pH, matéria orgânica, nitrogênio, carbono, fósforo, potássio, e cálcio do solo foi utilizada uma análise de correlação de Pearson. Para as duas análises citadas foi utilizando o programa computacional SPSS 10.0.

A freqüência absoluta dos fungos endofíticos e epifíticos de maior abundância nas três áreas foi comparada pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), a diversidade dos fungos endofíticos e epifíticos das três áreas de estudo foi avaliada

através do índice de diversidade de Shannon-Wiener, e comparados pelo Teste-t, utilizando o programa computacional Quantan versão 1997.

O índice de Shannon-Wiener (H), combina os componentes riqueza e uniformidade e atribui um peso maior as espécies raras, expressa a importância relativa de cada espécie e não apenas a proporção entre espécies e indivíduos. O índice de Shannon, como ficou consagrado, é relativamente independente do tamanho da amostra e representa uma distribuição normal, desde que, N seja um número inteiro (Odum, 1988 e Matos et al., 1999).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 8 encontram-se as características morfológicas das colônias (textura e cor) e tipo de micélio dos fungos filamentosos isolados como endofíticos e epifíticos de amostras de raízes coletadas nas três áreas de estudo. Os fungos de micélio estéril (*Mycelia sterilia*) não formaram estruturas de frutificação em nenhum dos meios de cultura utilizados (BDA, ágar V-8, ágar de farinha de milho e ágar de farinha de aveia), portanto foram classificados em sete morfotipos.

O fungo de morfotipo 4, foi isolado como endofítico e epifítico de fragmentos de raízes de guajuvira ou de uva-do-japão e só cresceu na presença dos fragmentos dessas raízes, isso é, só cresceu quando o fragmento da raiz foi transferido junto com o inóculo da placa original para outra placa contendo meio BDA. Nos meios ágar V-8, ágar de farinha de milho e ágar de farinha de aveia não houve crescimento nem mesmo na presença das raízes.

Tabela 8. Fungos endofíticos e epifíticos isolados de raízes coletadas nas áreas, A1 (mata), A2 (intermediária) e A3 (lavoura), durante os anos de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Fungos	Cor	Textura	Micélio
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht	Branco, Rosa claro, Vináceo ou púrpura, verso branco, púrpura ou vináceo	afeltrada	Septado, hialino
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	Creme, verso creme	aveludada	Septado hialino
<i>Fusarium semitectum</i> Berk. & Ravenel	Branco, pêssego, verso pêssego	afeltrada	Septado, hialino
<i>Fusarium</i> sp.	Amarelo, verso amarelado	aveludada	Septado, hialino
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	Verde amarelado para verde escuro e verso incolor ou amarelo	algodonosa	Septado hialino
<i>Trichoderma koningii</i> Oud.	Verde escuro ou azulado, verso incolor	algodonosa	Septado hialino
<i>Trichoderma viride</i> Pres. ex S.F.	Verde azulado, verso amarelado		Septado, hialino
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	Verde acinzentado, verso amarelado	aveludada	Septado, hialino
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	Verde escuro, verso púrpura	aveludada	Septado, hialino
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	Verde acinzentado, verso amarelo	aveludada	Septado, hialino
<i>P. simplicissimum</i> (Oudemans) Thom	Verde azulado, verso amarelo pálido	algodonosa	Septado, hialino
<i>Penicillium frequentans</i> (Wehmer) Westling	Verde claro verso amarelado	aveludada	Septado, hialino
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	Lilás acinzentada, verso bege	algodonosa	Septado hialino
<i>Paecilomyces</i> sp. Bainier	Rosa escuro, verso amarelado	aveludada	Septado hialino
<i>Cladosporium herbarum</i> (Pres.) Link ex S.F. Gray	Verde musgo, verso preto	aveludada	Septado, escuro
<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goidanich	Preto, verso preto	afeltrada	Septado, escuro
<i>Pythium oligandrum</i> Drechsler	Branco acinzentado	algodonosa	Cenocítico, hialino
<i>Pythium</i> sp.	Branco acinzentado	algodonosa	
<i>Aspergillus flavus</i> Link	Verde amarelado, verso verde		
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius	Verde azulado, verso verde	afeltrada	Septado hialino
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	Preto, verso bege a incolor	aveludada	Septado hialino
<i>Geotrichum candidum</i> Link	Branco a creme, verso branco	cremosa	Septado, hialino
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenberg ex Fr.) Lindner	Cinza escuro, verso cinza	algodonosa	Cenocítico, castanho claro
<i>Mucor racemosus</i> Fresenius	Castanho acinzentado, verso cinza	algodonosa	Cenocítico, castanho
<i>Absidia</i> sp.	Castanho, verso bege	algodonosa	Cenocítico, castanho
<i>Mycelia sterila</i> :			
Morfotipo 1	Amarelo, verso branco	aveludada	Septado, hialino
Morfotipo 2	Preto úmido, verso preto	aveludada	Septado, escuro
Morfotipo 3	Cinza claro, verso cinza	aveludada	Septado, hialino
Morfotipo 4	Cinza escuro, bordas esverdeadas verso preto	afeltrada	Septado, escuro
Morfotipo 5	Branco, verso branco	algodonosa	Septado, hialino
Morfotipo 6	Bege, verso bege	afeltrada	Septado, hialino
Morfotipo 7	Marrom, verso bege	afeltrada	Septado, hialino

5.3.1. Fungos endofíticos

Na tabela 9 encontram-se os fungos endofíticos isolados nos meses de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005 em três áreas. Na área 1 (mata nativa) predominaram os fungos de micélio estéril morfotipo 4 (41,2 %), *Trichoderma harzianum* (17,6 %), *Fusarium oxysporum*, fungo de micélio estéril, morfotipo 2 (10,2 %) e *F. semitectum* (8,0 %). Na área 2 (área intermediária) *F. oxysporum* (21,1 %), *F. semitectum* (14,1 %), *T. koningii* (13,0 %), *Macrophomina phaseolina* (13,0 %), fungos de morfotipo 4 (11,4 %) e morfotipo 2 (10,8 %). Na área 3 (lavoura) como endofíticos, os fungos, *F. oxysporum* (38,2 %), *M. phaseolina* (21,5 %), *F. semitectum* (14,6 %), *T. harzianum* (6,4 %) e morfotipo 3.

Fusarium solani e *M. phaseolina* não foram detectados na área 1 e o morfotipo 4 não ocorreu na área 3. *Penicillium chrysogenum* foi isolado somente uma vez e como endofítico na área 3.

A figura 2 mostra o dendrograma relativo à similaridade das áreas segundo as espécies de fungos endofíticos isoladas. Comparando-se as três áreas, as maiores similaridades são encontradas entre as áreas 1 e 2, isto é área de mata nativa e área intermediária. Embora, a mata tenha um número maior de espécies vegetais e distintos dos encontrados na área intermediária, essa similaridade pode ser explicada em parte, pelo fato de que os fungos foram isolados de plantas perenes nessas áreas. Na mata foram isolados de raízes de guajuvira e na área intermediária de raízes de uva-do-japão. As amostras foram coletadas sempre nas mesmas plantas variando apenas a época da coleta. Não há interferência direta ou proposital do homem sobre as plantas da área 2, as ervas daninhas, embora sejam anuais, permanecem nessa área de um ano para o outro, isto é, suas sementes caem no solo e voltam a germinar, completando assim seu ciclo, sem renovação genética. Já na lavoura, as amostras de raízes foram coletas de fumo (nos diferentes estágios de desenvolvimento), cultivares diferentes em cada ano de coleta e também em milho (maio de 2005). Portanto, houve troca de hospedeiro vegetal.

Tabela 9 Fungos endofíticos isolados das coletados nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS

Fungos	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04			Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
<i>Fusarium oxysporum</i>	6	6	8	2	3	13	3	4	9	1	5	13	1	2	11	2	12	8	1	0	11	4	7	16
<i>Fusarium solani</i>	0	0	0	0	5	0	0	4	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	1
<i>Fusarium semitectum</i>	5	4	6	0	9	9	0	2	3	1	2	4	5	3	2	4	2	5	0	2	2	0	2	3
<i>Trichoderma harzianum</i>	0	2	0	3	0	0	12	5	6	4	1	0	3	4	0	11	3	6	0	0	3	0	0	0
<i>Trichoderma koningii</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	24	0	0	0	0
<i>Trichoderma viride</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	5	0	0	0
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0	0	0	0	8	2	0	4	7	0	4	8	0	0	7	0	5	6	0	0	0	0	3	24
<i>Pythium</i> sp.	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morfotipo 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1	1	1	0	0
Morfotipo 2	0	1	0	3	0	0	5	0	2	3	9	0	4	2	0	2	6	1	0	0	5	2	2	0
Morfotipo 3	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	4	0	0	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Morfotipo 4	0	0	0	10	3	0	8	2	0	4	5	0	8	1	0	1	6	0	24	0	0	22	4	0
Morfotipo 5	0	0	0	3	1	0	0	0	2	2	3	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0
Morfotipo 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morfotipo 7	0	0	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Fragmentos	11	13	17	23	29	25	30	21	35	16	39	26	22	12	29	22	35	28	29	27	29	34	18	44

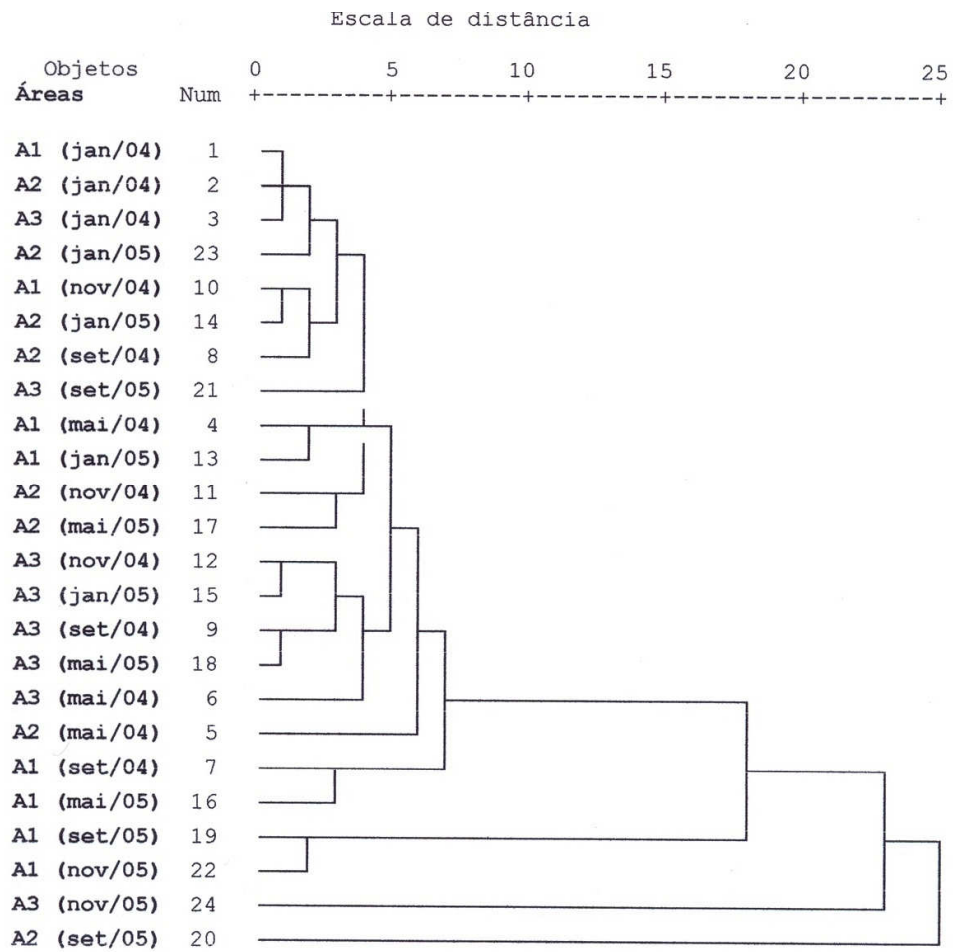


Figura 2 Dendrograma obtido da análise de agrupamento hierárquico (ligação média entre grupos) utilizando as variáveis fungos endofíticos, isolados das áreas: A1 (mata natural), A2 (Intermediária) e A3 (lavoura) a partir das coletas de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Distância Euclidiana.

5.3.2. Fungos epifíticos

Na tabela 10 encontram-se os fungos epifíticos (rizoplano) isolados nos meses de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005 nas três áreas. Na área 1 (mata nativa) predominaram *T. harzianum* (22,7 %), *T. koningii* (14,3 %), *F. oxysporum* (12,7 %), *F. semitectum* (10,3 %), *Rhizopus stolonifer* (7,3 %) e *Penicillium citrinum* (7,5 %). Na área 2 (área intermediária) *F. oxysporum* (27,5 %), *T. harzianum* (21,7%), *F. semitectum* (11,6 %), *P. citrinum* (9,3 %), *R. stolonifer* (7,3 %), *M. phaseolina* (6,9 %). Na área 3 (lavoura) *F. oxysporum* (25,4 %), *T. harzianum* (25,1 %), *F. semitectum* (11,3 %), *M. phaseolina* (9,3 %) e morfotipo 2 (5,1 %).

Pythium sp. foi isolado de amostras da área 3, em duas coletas e na área 1 em uma coleta. *Penicillium purpurogenum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Mucor racemosus* (uma ocorrência na área 2), *Absidia* sp. (duas ocorrências na área 1), *Pythium oligandrum* (duas ocorrências na área 3 e uma na área 2)

A figura 3 mostra o dendrograma relativo a similaridade das áreas segundo as espécies de fungos isoladas. Comparando-se as três áreas, as maiores similaridades com relação aos fungos epifíticos, são encontradas entre as áreas 2 e 3. Essa similaridade se deve em parte ao fato de que, as duas áreas são adjacentes e na época do plantio de milho algumas plantas invasoras da área intermediária (área 2) alcançam a lavoura (área 3). Para chegarem até a lavoura os trabalhadores passam pela área intermediária, inclusive com os equipamentos, portanto, podem veicular fungos de uma área a outra. A água da chuva também pode levar solo da área 2 para a área 3. Os fungos epifíticos, embora tenham interação com a planta, sofrem uma maior ação do ambiente externo, do que os endofíticos, principalmente do solo.

Tabela 10 Fungos epifíticos coletados nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS

Fungos	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04			Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
<i>Fusarium oxysporum</i>	6	10	9	3	3	10	3	5	7	4	10	6	2	6	9	3	15	4	5	10	12	6	12	22
<i>Fusarium solani</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
<i>Fusarium semitectum</i>	2	0	0	8	10	10	0	6	3	8	2	4	5	4	5	0	4	2	1	2	4	2	2	7
<i>Fusarium</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma harzianum</i>	12	10	4	10	0	16	10	11	10	4	4	0	7	9	6	14	11	29	0	3	10	0	8	3
<i>Trichoderma koningii</i>	0	0	0	0	7	3	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	9	0	0	27	6	0
<i>Trichoderma viride</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	3	0	0	00	0	0
<i>Penicillium purpurogenum</i>	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium citrinum</i>	0	2	2	10	12	3	3	6	0	2	3	0	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium herbarum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0	0	9	0	2	1	0	0	0	0	1	3	0	0	2	0	4	2	0	2	3	0	9	11
<i>Pythium oligandrum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0	0	0	0	0	3
<i>Pythium</i> sp.	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	3	0	0	6	10	0	0	2	0	0	0	0	4	2	3	8	5	3	0	0	0	0	0	0
<i>Mucor racemosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Absidia</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
Morfotipo 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	0	0	0	6	0
Morfotipo 2	3	0	0	0	3	3	4	0	2	0	2	3	2	0	2	0	0	5	2	0	1	1	0	0
Morfotipo 3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Morfotipo 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0
Morfotipo 5	0	2	0	3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Morfotipo 7	0	3	0	0	0	0	2	1	6	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Fragmentos	26	27	26	40	50	55	22	31	28	20	22	29	31	25	32	34	43	57	39	17	35	36	43	49

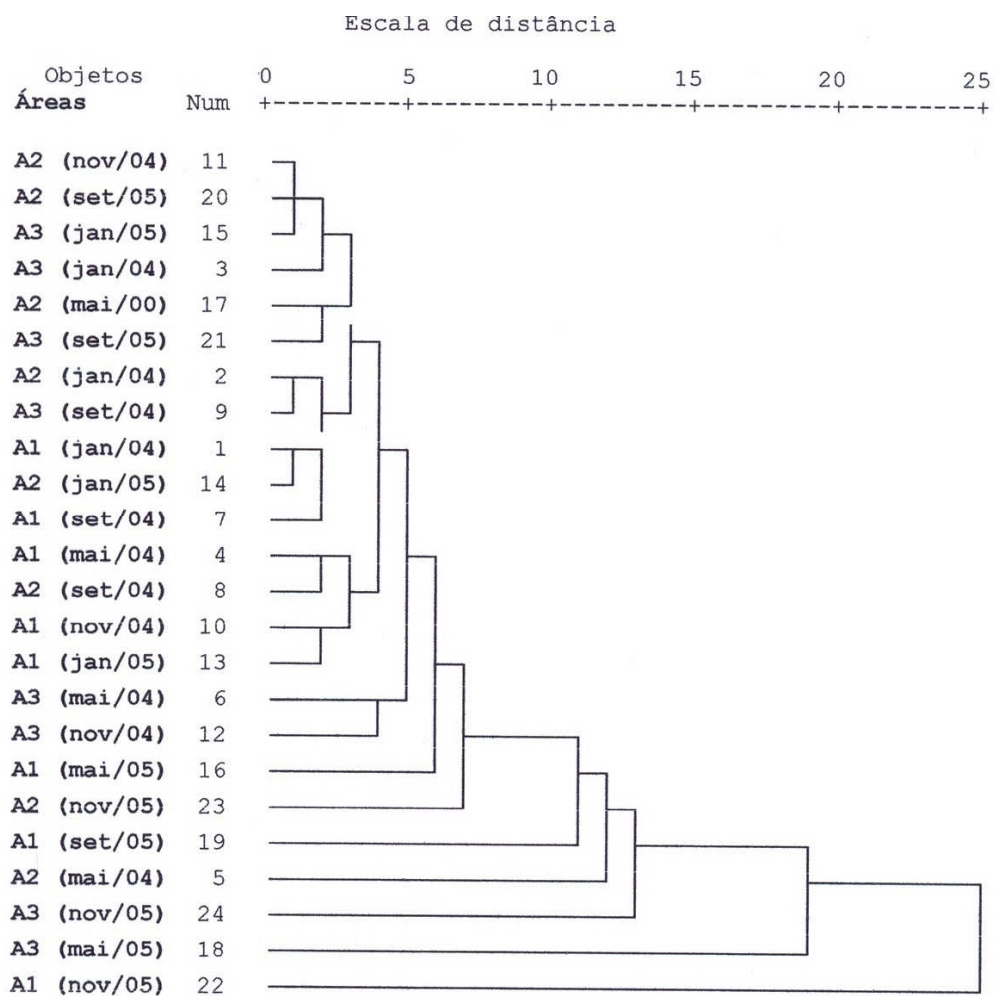


Figura 3. Dendrograma obtido da análise de agrupamento hierárquico (ligação média entre grupos) utilizando as variáveis fungos epifíticos, isolados das áreas: A1 (mata natural), A2 (Intermediária) e A3 (lavoura) a partir das coletas de janeiro, maio, setembro e novembro de 2004 e 2005. Distância Euclidiana.

Fusarium oxysporum predominou, principalmente na área 3, seguido de *F. semitectum* Segundo Summerell et al. (2003), é comum isolar mais do que uma espécie de *Fusarium* de porções individuais de plantas. Entre as espécies de *Fusarium*, *F. equiseti* e *F. semitectum* são saprofíticos e podem ser considerados invasores secundários de tecidos doentes.

No presente trabalho *F. oxysporum* foi isolado nas três áreas de plantas sem sintomas de doença. Para Edel et al. (2001) os isolados de *F. oxysporum* não patogênicos não podem ser distinguidos dos patogênicos somente pelas características morfológicas e culturais, e sim através de testes de patogenicidade. Os isolados não patogênicos têm apresentado uma similaridade genética muito alta com os isolados patogênicos, sugerindo que eles podem derivar um do outro. Estes resultados corroboram com os resultados obtidos por Skovgaard et al. (2002), que avaliaram quarenta e nove linhagens de *F. oxysporum*, isoladas da rizosfera e de raízes de ervilha, algumas com sintomas de apodrecimento. Os autores não encontraram correlação entre a estrutura filogenética e a patogenicidade para ervilha segundo a origem geográfica, e o substrato (solo ou planta) dos quais as linhagens de *F. oxysporum* foram isoladas. Para os autores essa falta de correlação sugere que as linhagens do complexo *F. oxysporum* causadoras de apodrecimento de raízes tenham evoluído recentemente de um ancestral não patogênico, ou que alguns desses isolados tenham perdido sua habilidade para causar a podridão de raízes. As diferentes linhagens foram hábeis em infectar as plantas e viver como endofíticos ou como parasitas em seus hospedeiros.

Segundo Willani (2004), *Fusarium* spp. são fungos de difícil controle em mudas, principalmente no sistema *float*, onde as fontes de inóculos são o solo e a água contaminados e bandejas reutilizadas. Na lavoura *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotiniana* pode ser introduzido por mudas contaminadas.

Foi isolado também *F. solani* nas áreas 2 e 3 como endofíticos e epifíticos. Segundo Ulacio et al. (1997), embora esse fungo não seja considerado um patógeno de fumo, não se deve descartar a hipótese do mesmo vir a formar uma associação com infecções causadas por *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *M. phaseolina*, *R. solani* ou por outra espécie do gênero *Fusarium*. Outro fungo fitopatogênico isolado com alta frequência foi *M. phaseolina*, porém, segundo Shew & Lucas (1991) e Massola Jr. et al. (2005), a podridão do colo em fumo causada por *M. phaseolina* é severa quando ocorre em períodos de temperaturas elevadas e déficit hídrico. No

Brasil, segundo Massola Jr. et al. (2005), esta doença ocorre nos Estados da Paraíba e Rio Grande do Norte, e é endêmica em regiões onde é cultivado fumo do tipo oriental. Esse fungo, segundo Pereira et al (2005), pode causar doença também em milho, sendo o mesmo isolado no presente trabalho como endofítico e epifítico também de raízes de milho em maio de 2005.

Foram isolados também *Pythium* sp. e *P. oligandrum*. *Pythium* sp. geralmente ataca as mudas jovens causando tombamento nos canteiros e participa da associação com outros fungos causando o amarelão em plantas na lavoura (Willani, 2004; Massola Jr. et al. (2005). Já *P. oligandrum* é citado como micoparasita de fitopatógenos residentes no solo como *Verticillium* sp., *Pythyum* sp. e *Fusarium* (Benhamou et al., 1997, Whipps, 2001).

Conforme Pereira et al. (2005), fungos como *Pythium* sp., *Fusarium* spp. e *M. phaseolina* também causam doenças em milho. Sendo a última considerada uma doença secundária.

Trichoderma spp. (*T. harzianum*, *T. koningii* e *T. viride*) foram isolados com alta frequência, nas três áreas, principalmente como epifítico na lavoura, este antagonista segundo Bettiol & Ghini (2004), tem controlado o tombamento em plântulas de fumo, causado por *Pythium*, *Sclerotinia* e *Rhizoctonia* com o bioformulado a base de *Trichoderma* cultivado em arroz. O produto final é misturado ao substrato do *float* na proporção de 100 g/ 100 Kg de substrato. Nos canteiros, o produto é dissolvido na água e aplicado após a semeadura. Uma aplicação é suficiente para o controle da doença tanto no substrato, quanto nos canteiros. Na lavoura avaliada no presente trabalho, as mudas foram produzidas pelo sistema de *float* como descrito acima, portanto são transplantadas para a lavoura com *Trichoderma* aderido as raízes e provavelmente também como endofítico das mesmas. Essa população de *Trichoderma* tem se mantido na lavoura, principalmente como epifítico.

Também foram isolados fungos do gênero *Penicillium*, sendo *P. chrysogenum* como endofítico de fumo e *P. purpurogenum* e *P. citrinum* como epifíticos, sendo esse último abundante nas áreas 1 e 2. Cao et al. (2002), isolaram de raízes de bananeira (*Musa acuminata*) *Gloesporium musae*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Paecylomyces* sp., os três últimos somaram 62% dos isolados. Os autores salientam que *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp. são fungos frequentemente

isolados do solo e produzem antibióticos que inibem o crescimento de patógenos latentes como *G. musae*, *Deightoniella torula* e *Fusarium* spp. em raízes.

5.3.3. Diversidade dos fungos endofíticos

Nas tabelas 11 e 12, encontram-se os resultados de abundância, número de espécies e índice de diversidade dos fungos endofíticos isoladas em meio BDA a partir dos fragmentos de raízes coletadas nas três áreas de estudos.

Na área 1 (mata nativa), a maior diversidade foi observada em novembro de 2004, e a menor em janeiro de 2004 e setembro de 2005. Em janeiro de 2004 ocorreram só duas espécies, *Fusarium oxysporum* e *F. semitectum* e em setembro de 2005, além de ocorrerem só três espécies, houve dominância do fungo de morfotipo 4. Na área 2 (intermediária) a maior diversidade foi observada em novembro de 2004, e a menor em setembro de 2005 quando houve menor riqueza de espécies e dominância de *Trichoderma koningii*. Na área 3 (lavoura), foi observada a maior diversidade em setembro de 2004 e janeiro de 2005. Nos meses de janeiro e maio de 2004 e novembro de 2005 foram obtidos os menores índices de diversidade o número de espécies também foi menor nesses meses, sendo que em janeiro e maio de 2004 houve dominância de *F. oxysporum* e *F. semitectum* e em novembro de 2005 de *F. oxysporum* e *M. phaseolina*.

Á dominância de *Fusarium* está relacionada a períodos de alta pluviosidade ou precedidos pela mesma. O que pode ser observado em janeiro de 2004, onde a temperatura média foi de 25,8°C, sendo o mesmo, precedido por um período de alta precipitação.

5.3.4. Diversidade dos fungos epifíticos

Nas tabelas 13 e 14, encontram-se os resultados de abundância, número de espécies, índices de diversidade dos fungos epifíticos isoladas em meio BDA a partir dos fragmentos de raízes coletadas nas três áreas de estudos.

Tabela 11. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como endofíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2004. Venâncio Aires, RS

	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
N (nº total de colônias fungicas)	11	13	17	23	29	25	30	21	35	16	29	23
S (riqueza de espécies)	2	4	3	6	6	4	6	6	7	7	7	5
H` (diversidade de Shannon-Wiener)	0,99	1,73	1,48	2,28	2,31	1,49	2,06	2,50	2,61	2,57	2,56	2,03

Tabela 12. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como endofíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2005. Venâncio Aires, RS

	Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
N (nº total de colônias fungicas)	22	12	29	22	35	28	29	27	29	34	18	44
S (riqueza de espécies)	6	5	8	6	7	7	3	3	7	7	5	4
H` (diversidade de Shannon-Wiener)	2,26	2,18	2,45	2,09	2,48	2,42	0,78	0,60	2,44	1,79	2,14	1,39

Tabela 13. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener para os fungos isolados como epifíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2004. Venâncio Aires, RS

	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
N (nº total de colônias fungicas)	26	27	26	40	50	55	22	31	28	20	22	29
S (riqueza de espécies)	5	5	6	6	9	9	5	6	5	5	6	7
H' (diversidade de Shannon-Wiener)	2,00	1,96	2,12	2,43	2,79	2,79	2,06	2,28	2,12	2,12	2,18	2,74

Tabela 14. Número total de colônias fungicas, riqueza de espécies e índice de diversidade de Shannon-Wiener) para os fungos isolados como epifíticos das áreas A1 (Mata nativa), A2 (área intermediária e A3 (lavoura de fumo) em janeiro, maio, setembro e novembro de 2005. Venâncio Aires, RS

	Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
N (nº total de colônias fungicas)	31	25	32	34	43	57	42	17	35	36	43	49
S (riqueza de espécies)	9	7	9	7	7	11	10	4	7	4	6	7
H' (diversidade de Shannon-Wiener)	3,01	2,40	2,86	2,35	2,44	2,56	2,98	1,61	2,39	1,11	2,43	2,19

A maior diversidade para os isolados epifíticos da área 1 ocorreu em janeiro 2005, e os menores índices ocorreram em novembro de 2005, nesse período houve menor número de espécies e dominância de *Trichoderma koningii*. Na área 2 a maior diversidade ocorreu em maio de 2004 e a menor em janeiro de 2004 e setembro de 2005 e também o menor número de espécies. Em janeiro de 2004 houve dominância de *F. oxysporum* e *T. harzianum* e em setembro de 2005 dominância de *F. oxysporum*. Na área 3 a maior diversidade ocorreu em janeiro de 2005 e a maior riqueza ocorreu em maio de 2005. A menor diversidade ocorreu em janeiro e setembro de 2004 com menor número de espécies. Em maio de 2005 houve dominância de *T. harzianum* e em novembro 2005 de *F. oxysporum* e *M. phaseolina*.

Quando foram comparados os índices de diversidade de Shannon-Wiener das três áreas ao longo dos dois anos de coleta, a diversidade não diferiu significativamente no Teste-t ($\alpha=0,05$) (Tabela 15) tanto para os fungos endofíticos como para os epifíticos. Este resultado confere com o obtido por Wilberforce et al. (2003), quando analisaram três áreas com manejos distintos, em relação a ocorrência de fungos endofíticos de raízes, os autores não verificaram diferença estatística quanto à diversidade das três áreas estudadas.

Tabela 15. Comparação entre as áreas segundo o índice de diversidade de Shannon para os fungos endofíticos e epifíticos isolados nas três áreas (mata, área intermediária e lavoura) nos anos de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Áreas	Índice de Shannon*	Interação	Variância	Teste t
Endofíticos				
A1	1,85 a	A1 x A2	0,41	0,65
A2	2,06 a	A1 x A3	0,33	0,64
A3	2,03 a	A2 x A3	0,34	- 0,081
Epifíticos				
A1	2,25 a	A1 x A2	0,24	- 1,51
A2	2,26 a	A1 x A3	0,23	- 0,88
A3	2,47 a	A2 x A3	0,11	- 1,26

Valores seguidos de letras distintas diferem significativamente no Teste -t ($\alpha = 0,05$); gl = 7

* valores médios

$t_{0,05; 7} = 2,36$

A abundância, riqueza e diversidade das espécies fúngicas isoladas, no presente trabalho não sofreram a ação da sazonalidade, o que também foi observado nos agrupamentos por similaridade. Provavelmente os resultados obtidos se devam

ao fato de que as três áreas estão localizadas na mesma região, portanto sujeitas aos mesmos fatores climáticos como temperatura e precipitação.

No presente trabalho a abundância de *Trichoderma* spp. foi maior nos isolados epifíticos (Tabelas 16 e 17), e essa abundância pode ser responsável pela ausência de doenças nas plantas das três áreas de estudo. Para Harman et al. (2004), as espécies de *Trichoderma* são oportunistas e avirulentas para plantas nas quais são simbioses, e parasitas de outros fungos. Algumas linhagens permanecem, por longo tempo, colonizando a superfície das raízes, penetram na epiderme e, em poucas células de camadas internas. Produzem e liberam uma variedade de compostos que induzem resistência localizada ou sistêmica nas plantas. A colonização da rizosfera, por *Trichoderma* spp., promove o crescimento de raízes e aumenta a produtividade, a resistência a estresses abióticos e a utilização de nutrientes. É fungo de vida livre que interage em ambientes como solo, raízes e folhas.

Tabela 16. Frequência absoluta de fungos endofíticos de maior ocorrência nas áreas A1 (mata), A2 (intermediária e A3 (lavoura) isolados das coletas de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Fungos	Área 1	Área 2	Área 3
<i>Fusarium oxysporum</i>	20 c	39 b	89 a
<i>Fusarium semitectum</i>	15 b	26 ab	34a
<i>Trichoderma harzianum</i>	33 a	15 b	15 b
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	24 b	50 a
Morfotipo 2	19 a	20 a	8 b
Morfotipo 4	77 a	21 b	-
* <i>Fusarium</i> spp.	35 c	74 b	129 a
* <i>Trichoderma</i> spp.	39 a	39 a	16 b

Números seguidos por letras distintas na linha, diferem entre si, $p = 0,05$, pelo teste do X^2

* somadas todas as espécies isoladas desses gêneros.

Tabela 17. Frequência absoluta de fungos epifíticos de maior ocorrência nas áreas A1 (mata), A2 (intermediária e A3 (lavoura) isolados das coletas de 2004 e 2005, Venâncio Aires, RS.

Fungos	Área 1	Área 2	Área 3
<i>Fusarium oxysporum</i>	32 b	71 a	79 a
<i>Fusarium semitectum</i>	26 a	30 a	35 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	57 a	56 a	78 a
<i>Trichoderma koningii</i>	36 a	13 b	9 b
<i>Macrophomina phaseolina</i>	-	12 b	31 a
Morfotipo 2	12 ab	5 b	16a
* <i>Fusarium</i> spp.	58 b	102 a	117 a
* <i>Trichoderma</i> spp.	96 a	71 a	91 a

Números seguidos por letras distintas na linha, diferem entre si, $p = 0,05$, pelo teste do X^2

* somadas todas as espécies isoladas desses gêneros.

5.3.5. Interação com fatores abióticos do solo

Fatores como umidade, matéria orgânica, pH, fósforo, nitrogênio, potássio, cálcio do solo, o total de fungos e ainda as espécies mais comuns de fungos endofíticos e epifíticos foram avaliados por uma análise de coeficiente de correlação de Pearson.

Para os fungos endofíticos na área 1, houve uma correlação inversa entre os fungos totais e o teor de fósforo, de matéria orgânica e carbono. *Fusarium semitectum* apresentou correlação inversa com o teor de fósforo e correlação positiva com o teor de nitrogênio. Na área 2, *F. semitectum* e *M. phaseolina* apresentaram correlação negativa com o pH e *M. phaseolina* apresentou correlação negativa com o potássio. Já, na área 3 *Pythium* sp. teve correlação positiva com fósforo e potássio.

Para os fungos epifíticos, na área 1, verificou-se uma correlação inversa de *P. citrinum* e *F. semitectum* com o teor de cálcio. Na área 2, houve correlação inversa entre o total de fungos e o pH. *Fusarium semitectum* apresentou correlação inversa com fósforo e potássio. Na área 3, *F. semitectum* apresentou correlação positiva com pH e inversa com potássio.

Segundo Bedendo (1995), o fósforo pode influenciar positiva ou negativamente a severidade da doença, em função do hospedeiro e do patógeno envolvidos. O autor cita que altas doses de fósforo podem aumentar a suscetibilidade de plantas de fumo e de pepino aos vírus do mosaico. Entretanto, a resistência de beterraba a *Phoma*, de fumo a *Pseudomonas* e de tomate a *Fusarium* é aumentada com o excesso de fósforo. Isso pode explicar a correlação inversa de fósforo com *F.*

semitectum (área 1 como endofítico e área 2 como epifítico) e com o total de fungos (área 1, como endofíticos), e positiva com *Pythium* (área 3 como endofítico) no presente trabalho. Com relação ao nitrogênio, Bedendo (1995), cita que em geral, o excesso do mesmo favorece a infecção e excesso de potássio reduz a infecção. Já o pH ácido de um modo geral favorece os fungos. Embora, no presente trabalho, os fungos citados foram isolados como endofíticos e epifíticos de plantas sem sintomas de doenças pode-se estabelecer um paralelo, pois a interação do endofítico-hospedeiro assemelha-se a interação patógeno-planta e os epifíticos estão sujeitos tanto a interferência da planta e seus exsudados como com os fatores abióticos do solo.

5.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A abundância de *Fusarium*, principalmente de *F. oxysporum* nas três áreas e em especial na lavoura, sem causar danos aparente pode estar relacionada a certas características desse fungo como: a) serem raças avirulentas presentes como endofíticos e epifíticos que poderiam estar atuando em benefício da planta; b) ser um patógeno latente, estando em equilíbrio com o restante da microbiota, endofítica e epifítica, com o hospedeiro e ambiente.

A abundância de fungos com potencial fitopatogênico como *Fusarium* spp. e *Macrophomina phaseolina*, principalmente como endofíticos na área 3 demonstra a influência do hospedeiro sobre os mesmos. O fungo *F. oxysporum*., como já foi referido, pode ser um patógeno latente em equilíbrio com o hospedeiro e o ambiente, portanto, a quebra desse equilíbrio pode favorecer a ocorrência da doença. Deve-se considerar, também, que o referido fungo possa pertencer a raças não patogênicas ou ter perdido a patogenicidade por mutação, porém a mesma pode ser recuperada ainda por mutação, bem como por processos naturais de recombinação somática como heterocariose, ciclo parassexual. Ainda por transposons, os quais segundo Azevedo (1999) conseguem transferir genes dentro e entre espécies distintas naturalmente. Uma quebra no equilíbrio pode favorecer também, espécies consideradas como patógenos secundários como *M. phaseolina*, que embora não esteja causando nenhum dano aparente, teve alta frequência nas áreas 2 e 3.

A presença de fungos antagonistas, principalmente *Trichoderma* spp. é um dos fatores responsáveis pelo equilíbrio. Vale ressaltar que na mata natural o fungo *Trichoderma* não é introduzido e, há pouca possibilidade do mesmo chegar até lá

pela água da chuva, pois existe um declive no terreno da mata em direção às áreas intermediária e lavoura.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que existe um equilíbrio dinâmico entre os fungos antagonistas, os fungos potencialmente fitopatogênicos e fatores ambientais nas três áreas. Especialmente, na área 3, lavoura comprova-se o princípio do controle biológico onde temos a presença do patógeno, do antagonista e do hospedeiro (fumo ou milho), no entanto, sem a manifestação da doença.

7. SUSGESTÕES

Testes de patogenicidade com os isolados de *Fusarium* spp e *Macrophomina phaseolina* na presença e ausência dos antagonistas em condições controladas.

Um acompanhamento dos endofíticos (fungos e bactérias) já a partir das sementes, nas mudas do *float* e depois na lavoura.

Utilizar técnicas moleculares na identificação dos fungos de micélio estéril isolados no presente trabalho.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S., WIDMER, T.L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**, v. 15, p. 37-47. 2000.
- ADLER, A., LEW, H. Mycogeography of the Genus *Fusarium*: A study of the *Fusarium* Flora in Soils of the Canary Islands. **Linzer Biologische Beitrage**, v.27, n. 2, p.1129-1159. 1995.
- AL-RAWAHI, A.K. Parasitism and biological control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum*. **Plant Disease, Sant Paul**, v. 82, n. 10, p. 1100-1106. 1998.
- ARAÚJO, W.L.; LIMA, A.O.S.; AZEVEDO, J.L.; MARCON, J.; SOBRAL, J.K.; LACAVA, P.T. **Manual: isolamento de microrganismos endofíticos**. Piracicaba, CALQ, 2002. 86 p.
- ATKINSON, D.; WATSON, C.A. The beneficial rhizosphere: a dynamic entity. **Applied Soil Ecology**. v. 15, p. 99-104. 2000.
- ATLAS, M.R. e BARTHA, R. **Microbial Ecology: fundamentals and applications**. 5.Ed. Redwood City: The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1997, 583p.
- AZEVEDO, J.L. Microrganismos endofíticos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L.(Edit.) **Ecologia microbiana**. Jaguariúna, Embrapa-Cnpma, 1998, p. 117-137.
- AZEVEDO, J.L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? **Revta. Brasil. Bot.**, São Paulo, v. 22, n. 2 (suplementos), p. 225-229. 1999.
- AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI Jr., W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, v. 3, n. 1, p. 40-65, 2000.
- BAE, Y.S.; KNUDSEN, G.R. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. **Biological Control**, San Diego, v. 32, p. 236-242, 2005.
- BAILEY, K.L.; LAZAROVITS, G. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. **Soil & Tillage Research**, v. 72, p. 169-180, 2003.

BEDENDO, I.P. Ambiente e Doença. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo, Ceres, 1995, v.1, p. 331-341.

BENDING, G.D., TURNER, M.K., JONES, J.E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. **Soil Biology & Biochemistry**, Britain, v. 34, p. 1073-1082, 2002.

BENHAMAOU, N.; REY, P.; K.; CHERIF, M.; HOCKENHULL, J.; TIRILLY, Y. Treatment with the mycoparasite, *Pythium oligandrum*, triggers the induction of defense-related reactions in tomato roots upon challenge with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. **Phytopathology**, Sant Paul, v.87, p. 108-122, 1997.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M.; LIMÓN, M.C.; CODÓN, A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**. v. 7, p. 249-260, 2004.

BERGAMIN FILHO, A. Ecosistemas, Agroecossistemas e Patossistemas. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo, Ceres, 1995. v.1, p. 554-573.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Métodos alternativos usados com sucesso no Brasil para o controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. (edits.) **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis, CCA/UFSC, 2004, p. 143-157.

BETTUCCI, L.; SIMETO, S.; ALONSO, R.; LUPO, S. Endophytic fungi of twigs and leaves of three native species of Myrtaceae in Uruguay. **Sydowia**, v. 56, n.1, p.8-23, 2004.

BOOTH, C. **The Genus Fusarium**. London, Commonwealth Mycological Institute, 1971, 237p.

BRIDGE, P., SPOONER, B. Soil fungi: diversity and detection. **Plant and Soil**. v. 232, p. 147-154, 2001.

BRODIE, E.; EDWARDS, S.; CLIPSON, N. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. **FEMS Microbiology Ecology**. v. 45, p.105-114, 2003.

BRONICK, C.J.; LAL, R. Soil structure and management: a review. **Geoderma**, Amsterdam, v. 124, p. 3-22, 2005.

BURDON, J.J.; SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 87, p. 664-669, 1997.

CABELLO, M.; ARAMBARRI, A. Diversity in soil fungi from undisturbed and disturbed *Celtis tala* and *Scutia buxifolia* forests in the eastern Buenos Aires province (Argentina). **Microbiol Research**, Cambridge, v. 157, p. 115-125, 2002.

CAO, L.X.; YOU, J.L.; ZHOU, S.S. Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, v.18, p.169-171, 2002.

CELAR, F. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. **Biological Control**, San Diego, v. 28, p. 19-24, 2003.

DNPEA, Boletim técnico, 30. Departamento Nacional de Pesquisa Agropecuária. Divisão pedológica. Brasil Ministério da Agricultura. **Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Rio Grande do Sul**. Recife, 1973. 431p.

DESER. A cadeia produtiva do fumo. **Revista Contexto Rural**, Curitiba, n. 4, 2003. Disponível em: <<http://www.Deser.org.br>>. Acesso em: 03 mar., 2004.

EDEL, V.; STEINBERG, C.; GAUTHERON, N.; RECORBET, G.; ALABOUVETTE, C. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from different soils in France. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 36, p. 61-71, 2001.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, EMBRAPA-SPI, 1999, 412p.

EMBRAPA-CNPMS. **Resistência a doenças das cultivares de milho** disponíveis no mercado para 2004 e 2005. Disponível em : <<http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/consultas>>. Acesso em: 20 jan., 2006.

FERNANDES, A. **Fitogeografia Brasileira**. Fortaleza, Multigraf Editora Ltda., 2000, 341p.

FERNANDEZ, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1993, 128p.

GAMS, W.; BISSETT, J. Morphology and identification of *Trichoderma*¹. In: KUBICEK, C.P.; HARMAN, G. E. *Trichoderma and Gliocladium: Basic biology, taxonomy and genetics*. London: Taylor & Francis Ltd., 1998, v. 1, p. 3-33.

GILLER, K.E., BEARE, M.H., LAVELLE, P., IZAC, A.M.N., SWIFT, M.J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, v. 6, p.3-16, 1997.

GONZALEZ SALGADO, C.H.; RODRIGUEZ LARRAMENDI, L.; ARJONA, C.; PUERTAS, A.; FONSECA, M.A. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. **Invest. Agr. Prot. Veg.** v. 14, n. 1-2, p. 297-306, 1999.

HACKL, E.; PFEFFER, M.; DONAT, C.; BACHMANN, G.; ZECHMEISTER-BOLTENSTRN, S. Composition of the microbial communities in the mineral soil

under different types of natural forest. **Soil Biology & Biochemistry**. v. 37, p. 661-671, 2005.

HADACEK, F.; KRAUS, G.F. Plant root carbohydrates affect growth behaviour of endophytic microfungi. **FEMS Microbiology Ecology**. v. 41, p. 161-170, 2002.

HARMAN, G.E. Myths and dogmas of biocontrol: changes derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, Sant Paul, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHEF, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews**, v. 2, p. 43-56, 2004

HERVÁS, A.; LANDA, B.; DATNOFF, L.E.; JIMÉNEZ-DIAZ, R.M. Effects of commercial and indigenous microorganisms on *Fusarium* wilt development in chickpea. **Biological Control**, San Diego, v. 13, p.166-176, 1998.

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

KENNEDY, A.C., GEWIN, V.L. Soil Microbial Diversity: Present and Future Considerations. **Soil Science**, v. 162, n. 9, p. 607-617, 1997.

KORNILLOWICZ-KOWALSKA, T., SZWED, A., JEZIERSKA-TYS, S. Fungal colonization of tobacco waste. **Acta Mycologica**, v. 35, n. 1, p. 99-106, 2000.

KUBICEK, C.P.; BISSETT, J.; DRUZHININA, I.; KULLNIG-GRADINGER, C.; SZAKACS, G. Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma*: a case study on South-East Asian isolates. **Fungal Genetics and Biology**, v. 38, p. 310-319, 2003.

KUCHAREK, T.; JONES, J.P.; HOPKINS, D.; STRANDBERG, J. Some diseases of vegetable and agronomic crops caused by *Fusarium* in Florida. **Circular**, 2000. Disponível em <<http://plantpath.ifas.ufl.edu/takexpud/FactSheets/cir1025.pdf>> Acessado em: 26 ago., 2005.

LOPEZ-LLORCA, L.V.; BORDALLO, J.J.; SALINAS, J.; MONFORT, E.; LÓPEZ-SERNA, M.L. Use of light and scanning electron microscopy to examine colonisation of barley rhizosphere by the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. **Micron**. v. 33, p. 61-67, 2002.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. São Paulo, Editora Plantarum Ltda. 1994, 299p.

MACCHERONI Jr., W.; ARAÚJO, W.L.; LIMA, A.O.S. Ecologia: habitat e interações fúngicas com plantas, animais, fungos e bactérias. In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J.L. (Orgs.) **Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul, Educs, 2004, p. 451-490.

MASSOLA Jr., N.S.; PULCINELLI, C.E.; JESUS Jr., W.C.; GODOY, C.V. Doenças do Fumo (*Nicotiana tabacum*). In: In: KIMATI, h.; AMORIN, L; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 2005, p.361-370.

MATOS, R.M.B.; SILVA, E.M.R.; BERBARA, R.L.L. **Biodiversidade e índices**. Seropédica, Embrapa-CNPAB, (Documentos, 107). 1999, 20p.

MELO, I.S. Isolamento de agentes de biocontrole da rizosfera. In: MELO, I.S. e AZEVEDO, J.L. (edits.). **Controle biológico** Jaguariúna, Embrapa-CNPMA, 2000, v. 3, p.15-39.

ODUM, E.P. **Ecologia**. São Paulo, Editora Guanabara Koogan S.A., 1988, 434p.

ONIONS, A.H.S.; ALLSOPP, D. e EGGINS, H.O.W. **Smith's Introduction to Industrial Mycology**. London, Edward Arnold, 1981, 398 p.

PANDEY, A.; PALNI, L.M.S.; BISHT, D. Dominant fungi in the rhizosphere of established tea bushes and their interaction with the dominant bacteria under *in situ* conditions. **Microbiol. Research**, Cambridge, v. 156, p. 377- 382, 2001.

PANKHURST, C.E., OPHEL-KELLER, K., DOUBE, B.M., GUPTA, V.V.S.R. Biodiversity of Soil Microbial Communities in Agricultural Systems. **Biodiversity and Conservation**, v. 5, n. 2, p. 197-209, 1996.

PEIXOTO-NETO, P.A.S.P.; AZEVEDO; J.L. e ARAÚJO, W.L. Microrganismos Endofíticos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília**, n. 29, p. 62-76. 2002. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.uol.com.br/revista/bio.pdf>> Acesso em 12 abr., 2004.

PEREIRA, O.A.P.; CARVALHO, R.V.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho. In: KIMATI, h.; AMORIN, L; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 2005, p. 477-488.

PUROHIT, U., MEHAR, K., SUNDARAMOORTHY, S. Role of *Prosopis cineraria* on the ecology of soil fungi in Indian desert. **Journal of Arid Environments**, v. 52, p.17-27, 2002.

RAYMUNDO Jr., O., TAUKE-TORNISIELO, S.M. Occurrence of Hyphomycetes and Actinomycetes in Red-yellow Latosol from a Cerrado Region in Brazil. **Revista de Microbiologia**, Rio de Janeiro, July-Sept., v. 28, n. 3, p. 197-203, 1997.

RAYNER, W. **Mycological colour chart**. Key, Commonwealth Mycological Institute, British Mycological Society, 1970, 52p.

ROBERTS, D.P.; LOHRKE, S.M.; MEYER, S.L.F.; BUYER, J.S.; BOWERS, J.H.; BAKER, C.J.; LI, W.; SOUZA, J.T.; LEWIS, J.A.; CHUNG, S. Biocontrol agents

applied individually and in combination for suppression of soilborne disease of cucumber. **Crop Protection**, Guildford, v. 24, p. 141-155, 2005.

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, Sant Paul, v. 96, n.2, p.195-206. 2006.

SANTAMARÍA, J.; BAYMAN, P. Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). **Microbial Ecology**, San Juan, v.50, p.1-8, 2005.

SANTOS, R.M.G.; RODRIGUES-FO, E.; ROCHA, W.C.; TEIXEIRA, M.F.S. Endophytic fungi from *Melia azedarach*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, v. 19, p.767-770, 2003.

SCHLOTTER, M.; DILLY, O.; MUNCH, J.C. Indicators for evaluating soil quality. **Agriculture Ecosystems & Environment**. v 98, p. 255-262, 2003.

SELOSSE, M-A.; TACON, F.Le. The land flora: a phototroph-fungus partnership? **Tree**. v. 13, n. 1, p. 15-20, 1997.

SHEW, H.D.; LUCAS, G.B. (edit) **Compendium of tobacco diseases**. APS PRESS (The American Phytopathological Society), 1991, 68p.

SILVA, J.C.; BETTIOL, W. Potential of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolates for control of Fusarium wilt of tomato. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 409-412, 2005.

SKOVGAARD, K., BODKER, L., ROSENDAHL, S. Population structure and pathogenicity of members of the *Fusarium oxysporum* complex isolated from soil and root necrosis of Pea (*Pisum sativum* L.). **FEMS Microbiology Ecology** v. 42, p. 367-374, 2002.

SMITH, H.; WINGFIELD, M.J.; PETRINI, O. *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus nitens* in South Africa. **Forest Ecology and Management**. v. 89, p. 89-195, 1996

SUMMERELL, B.A.; SALLEH, B.; LESLIE, J.F. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant Disease**, Sant Paul, v.87, n. 2, p. 177-128, 2003.

THANGAVELU, R.; PALANISWAMI, A.; VELAZHAHAN, R. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing fusarium wilt of banana. **Agriculture Ecosystems & Environment**. v. 103, p. 259-263, 2004.

TOMÉ Jr., J.B. **Manual para interpretação de análise de solo**. Guaíba, Livraria e Editora Agropecuária, 1997, 247p.

ULACIO, D.; PÉREZ, C.; PINEDA, J. Micoflora asociada a las raíces de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) provenientes del Estado Portuguesa. **Bioagro**, v.9, n. 1, p.3-11, 1997.

VIJAYKUMAR, B.S., NARASIMHAM, A.V.L. Microbial Ecology of Groundnut Soil in Anantapur District. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, v. 20, n. 3, p. 339-340, 1995.

WEILER, C.A. **A interação Fumo-*Trichoderma* sp. no sistema *floating* de produção de mudas.** 2004. 42 f. Dissertação (Mestrado) – Program de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

WILBERFORCE, E.M., BODDY, L., GRIFFITHS, R., GRIFFITH, G.W. Agricultural management affects communities of culturable root-endophytic fungi in temperate grasslands. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 35, p. 1143-1154, 2003.

WILLANI, S.A. **Controle integrado de pragas e doenças e outros danos na cultura do fumo.** Santa Cruz d Sul, Universal Leaf Tabacos, 2004, 61p.

YEDIDIA, I.; BENHAMOU, N.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Induction an accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiology Biochemistry**, Paris, v. 38, p. 863-873, 2000.

9. APÊNDICES

Apêndice 1. Análises Físico-químicas das amostras de solo rizosférico coletadas nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2004. Venâncio Aires, RS

Parâmetros	Janeiro/04			Maio/04			Setembro/04			Novembro/04		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
Argila %	29	35	44	38	39	50	32	28	46	44	42	51
Areia Grossa %	14	21	14	15	19	12	21	22	16	20	23	18
Areia Fina %	8	14	12	9	8	10	10	10	9	9	10	9
Silte %	49	32	30	38	34	28	37	40	29	27	25	22
Umidade %	23	15	16	24	22	21	27	22	22	22	20	16
pH (em água 1:1)	5,7	6,7	5,4	5,5	6,2	6,2	5,8	6,8	5,4	5,8	6,7	5,5
Índice SMP	5,8	6,5	5,4	5,9	6,6	5,7	6,1	6,8	5,8	6,0	6,7	5,8
P mg/dm ³ (Método de Mehlich)	6,5	10	37	3,9	1,4	5,1	2,7	2,5	6,2	6,6	4,8	8,2
K mg/dm ³ (Método de Mehlich)	316	436	602	270	359	218	237	> 400	349	347	>400	375
M.O.% (Método de digestão úmida)	10,7	4,5	2,5	8,4	6,4	3,2	7,9	6,8	3,5	8,9	7,9	3,2
C %	6,2	2,6	1,4	4,9	3,7	1,9	4,6	3,9	2,0	5,17	4,59	1,86
N%	0,5	0,2	0,1	0,42	0,32	0,16	0,4	0,3	0,2	0,45	0,39	0,16
Al _{troc.} cmol _c /dm ³ (KCl 1 mol L ⁻¹)	0,1	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Ca _{troc.} cmol _c /dm ³ (KCl 1 mol L ⁻¹)	20,0	18,9	8,9	9,9	20,8	9,9	17,8	21,3	9,5	24,3	23,8	8,7
Mg _{troc.} cmol _c /dm ³ (KCl 1 mol L ⁻¹)	5,9	7,3	3,0	4,1	4,3	2,9	4,0	5,0	3,3	3,5	5,4	3,0
Al + H cmol _c /dm ³	4,3	2,3	6,1	4,9	2,2	6,2	3,9	1,7	5,5	4,4	2,0	5,5
CTC cmol _c /dm ³	31,1	29,6	19,8	28,9	28,2	19,5	26,3	29,2	19,3	33,1	32,6	16,2
SAT da CTC % Bases	86	92	68	83	92	68	85,0	94,0	71,0	87	94	69
SAT da CTC % Al	0,3	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0
Ca/Mg	3,4	2,6	3,0	4,7	4,8	3,4	4,5	4,3	2,9	7,0	4,4	2,9
Ca/K	25	17	6	28	23	18	29,0	18,0	11,0	27	17	9
Mg/k	7,0	7,0	1,9	6,0	4,7	5,0	7,0	4,2	3,7	3,9	3,8	3,1
S mg/dm ³ (CaHPO ₄ 500mg L ⁻¹ de P)	5,7	8,5	7,2	9,3	7,4	7,2	6,8	5,2	5,9	6,3	6,9	8,5
Zn mg/dm ³ (com HCl 0,1 mol L ⁻¹)	8,3	7,9	6,6	9,5	7,2	4,8	9,4	4,2	5,5	1,2	6,3	7,1
Cu mg/dm ³ (com HCl 0,1 mol L ⁻¹)	0,1	2,3	5,3	0,4	1,6	4,2	0,9	1,5	5,1	0,3	1,3	5,9
B mg/dm ³ (com água quente)	0,3	0,3	0,4	1,2	0,8	0,7	0,4	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5
Mn mg/dm ³	81	17	123	5,0	1,0	15,0	13,0	2,0	48,0	11	7	57

pêndice 2 Análises Físico-químicas das amostras de solo rizosférico coletadas nas áreas A1 (mata nativa), A2 (vegetação intermediária) e A3 (Lavoura de fumo), durante o ano de 2005. Venâncio Aires RS

Parâmetros	Janeiro/05			Maio/05			Setembro/05			Novembro/05		
	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	ÁREA	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
Argila % (método do densímetro)	44	40	53	42	43	53	36	34	48	46	42	51
Areia Grossa %	17	16	13	18	14	13	19	20	14	18	22	17
Areia Fina %	9	11	8	12	8	10	11	12	9	8	10	9
Silte %	30	33	26	28	35	24	34	34	29	28	26	23
Umidade %	30	27	24	24	21	17	41	36	30	18	18	18
PH (em água 1:1)	5,8	6,7	5,2	5,4	6,4	5,2	5,7	6,9	5,4	5,8	6,8	5,8
Índice SMP	5,7	6,5	5,4	5,7	6,7	5,6	5,8	6,9	5,6	5,9	6,7	5,8
P mg/dm ³ (Método de Mehlich)	5,8	4,5	7,4	5,9	6,3	9,4	3,3	3,9	23,0	3,8	5,7	14,0
K mg/dm ³ (Método de Mehlich)	298	>400	354	245	>400	357	293	>400	>400	251	>400	>400
M.O.% (digestão úmida)	9,7	6,3	3,9	7,8	4,4	2,9	6,6	6,7	2,8	8,3	6,9	3,4
C %	5,6	3,7	2,3	4,5	2,6	1,7	3,83	3,89	1,62	4,8	4,0	2,0
N%	0,5	0,3	0,1	0,4	0,2	0,1	0,33	0,33	0,14	0,42	0,35	0,17
Al _{troc.} cmol _c /dm ³ (extraído c/KCl 1 mol L ⁻¹)	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0
Ca _{troc.} cmol _c /dm ³ (extraído c/KCl 1 mol L ⁻¹)	21,9	20,5	8,6	18,8	21,3	9,1	19,0	24,0	9,2	17,5	22,7	8,1
Mg _{troc.} cmol _c /dm ³ (extraído c/KCl 1 mol L ⁻¹)	4,4	4,9	3,0	4,0	5,3	3,4	4,2	5,2	3,4	4,0	4,9	2,9
Al + H. cmol _c /dm ³	6,2	2,5	8,7	6,2	2,0	6,9	5,5	1,6	6,9	4,9	2,0	5,5
CTC cmol _c /dm ³	33,3	29,1	21,3	29,6	29,8	20,4	29,5	32,7	20,7	27,1	30,8	17,7
SAT da CTC % Bases	81	91	59	79	93	66	81	95	66	82	94	69
SAT da CTC % Al	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	2,9	0,0	0,0	3,5	0,0	0,0	0,0
Ca/Mg	5,0	4,2	2,9	4,7	4,0	2,7	4,5	4,3	2,7	4,4	4,6	2,8
Ca/K	29	17	9	30	17	10	25	20	9	27	19	7
Mg/k	6,0	4,0	3,3	6,0	4,3	3,7	6,0	4,7	3,1	6,0	4,0	2,6
S mg/dm ³ (S-SO ₄ com CaHPO ₄ 500mg L ⁻¹ de P)	7,3	7,0	6,0	6,9	7,7	8,8	9,5	8,1	9,8	6,8	6,1	8,0
Zn mg/dm ³ (extraído com HCl 0,1 mol L ⁻¹)	13,0	5,4	6,6	14,0	4,5	6,2	12,0	4,0	6,5	12	5,2	6,6
Cu mg/dm ³ (extraído com HCl 0,1 mol L ⁻¹)	0,4	1,9	5,9	0,4	2,5	5,3	1,0	1,1	5,3	0,8	2,0	5,9
B mg/dm ³ (com água quente)	0,6	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,8	0,7	0,6	0,5	0,5	0,5
Mn mg/dm ³	52	14	77	27	07	59	47	5	46	14	7	45

Apêndice 3 Coeficientes de correlação de Pearson entre a ocorrência de fungos rizosféricos e umidade (U) pH, matéria orgânica (MO), Carbono (C) fósforo (P), potássio (K) e cálcio (Ca) do solo das três áreas de coleta.

	Área 1				Área 2			Área 3				
	U%	pH	K	Ca	pH	P	K	U	MO	C	P	K
Fungos totais	-	-	-	-	-0,042	0,747*	0,556	0,844**	-0,141	-0,132	0,264	0,069
Fusarium oxysporum	-0,532	0,332	0,708*	-0,194	0,604	0,250	0,122	0,878**	0,144	-0,156	0,131	-0,003
F. semitectum	-	-	-	-	0,168	-0,223	-0,322	-	-	-	-	-
Penicillium citrinum	0,165	-0,370	-0,516	-0,807*	-0,734*	-0,399	-0,664	-	-	-	-	-
P.urpurogenum	-0,002	-0,752*	-0,135	0,952	0,730	0,791*	0,726*	0,092	0,767*	-0,810*	0,929*	0,803*
Morfotipo 2	-0,218	-0,713*	-0,770	0,500	-	-	-	0,211	-0,431	-0,393	0,058	-0,044
Morfotipo5	0,731*	-0,315	-0,560	0,119	-	-	-	0,756*	0,085	0,128	-0,109	-0,416

* significativo p = 0,05

** significativo p = 0,01

Apêndice 4 Coeficientes de correlação de Pearson entre a ocorrência de fungos endofíticos pH, matéria orgânica (MO), Carbono (C) fósforo (P) e potássio (K) do solo das três áreas de coleta.

	Área 1				Área 2		Área 3	
	MO	C	N	P	pH	K	P	K
Fungos totais	- 0,720*	- 0,710*	- 0,601	- 0,852**	-	-	-	-
Fusarium oxysporum	-	-	-	-	- 0,345	0,223	-	-
F. semitectum	-	-	0,769*	- 0,763*	- 0,755*	- 0,594	-	-
Pythum sp.	-	-	-	-	-	-	0,852**	0,840**
M. phaseolina	-	-	-	-	- 0,767*	- 0,754*	-	-

* significativo p = 0,05

** significativo p = 0,01

Apêndice 5 Coeficientes de correlação de Pearson entre a ocorrência de fungos epifíticos pH, fósforo (P), potássio (K) e cálcio (Ca) do solo das três áreas de coleta.

	Área 1	Área 2			Área 3	
	Ca	pH	P	K	pH	K
Fungos totais	-	- 0,741*	- 0,201	- 0,541	-	-
F. semitectum	- 0,763*	- 0,691	- 0,803*	- 0,873**	0,813*	- 0,772*
Penicillium citrinum	-0,745*	-	-	-	-	-

* significativo p = 0,05

** significativo p = 0,01

Apêndice 6. Precipitação pluviométrica e temperaturas médias da região em 2003, 2004 e 2005. Venâncio Aires, RS

Dados de precipitação total (mm)			Dados de temp. (média aritmética) °C			
Ano	2003	2004	2005	2003	2004	2005
Janeiro	123.2	46.6	30.1	26.3	25.8	26.6
Fevereiro	199.6	61.0	40.4	25.9	24.0	25.6
Março	180.2	32.6	166.7	24.2	25.1	24.8
Abril	123.1	86.5	83.7	20.3	23.2	19.9
Maio	39.2	101.9	181.2	17.1	16.1	18.4
Junho	156.5	121.7	57.0	17.0	16.3	18.2
Julho	131.3	181.7	62.1	14.6	14.0	15.4
Agosto	60.6	66.9	179.1	14.7	15.8	16.8
Setembro	52.7	205.1	201.4	16.2	19.2	15.9
Outubro	237.7	120.1	334.6	21.1	19.9	19.4
Novembro	124.5	189.5	64.6	22.7	22.3	23.3
Dezembro	236.5	61.4	69.7	23.1	24.4	24.2

Fonte: Dados FEPAGRO - Departamento de Agrometeorologia Estação Taquari