

Isolamento de Fungos de Solo Associados a culturas de Amora, Framboesa e Mirtilo no sul do Brasil.

Isolation of Soil Fungi Associated to the cultures of Blackberry, Raspberry and Blueberry in Brazilian Southern highland

PINOTTI, Maria Margareth Zamboni^{1, 3}; SANTOS, Júlio César Pires¹; KLAUBERG FILHO, Osmar¹; MICHELLUTI, David José¹; CASTRO, David Ricardo Lima de²

1 Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Lages/SC - Brasil; 3 doutoranda do Programa de Pós Graduação em Agronomia- PPGA, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages/SC - Brasil, margarethzp@yahoo.com.br; 2 Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, Brasil; 3 Universidade de Caxias do Sul- UCS/Curso de Agronomia, Campus de Vacaria, Vacaria/RS - Brasil

RESUMO: Os fungos de solo constituem inúmeras espécies, que sofrem alterações por diversos fatores. Dentre estes é possível destacar o manejo e características químicas do solo utilizado no estabelecimento de diferentes culturas. Este trabalho objetivou o isolamento de fungos mais frequentes no solo associados a culturas de amora (*Rubus* sp), Framboesa (*Rubus idaeaus*) e mirtilo (*Vaccinium* spp) em manejo integrado e convencional, em Latossolo bruno, na região de Vacaria, situada no nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras de solo foram coletadas sempre pela manhã, em quatro pontos da região em quatro datas entre junho de 2008 e março de 2009. As amostras coletadas foram diluídas até 10^{-3} , colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA acrescido de antibiótico e submetidas a incubação a 25°C com fotoperíodo de 12 horas por 7 dias. A maior incidência de fungos isolados pertencem aos gêneros *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp e dos antagonísticos *Clonostachys rosea* e *Trichoderma* sp. As colônias identificadas morfológicamente, foram comparadas quantitativamente quanto ao tipo de manejo a que estavam submetidas as plantas de origem. Os fungos *C. rosea* e *Trichoderma* sp. foram isolados somente nos quatro solos, em cada uma das três culturas conduzidas com manejo integrado. *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp apareceram mais frequentemente em solos de todas as culturas, independentemente do manejo utilizado.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos de solo, isolamento, pequenos frutos.

ABSTRACT: Soil microscopic fungi population is formed by several species that suffer alterations by many factors. Among these, it is possible to remark both soil management and soil chemical properties used on the establishment of the different cultures. However, it has been less effective when applied in some fruit species like blackberry and raspberry. This work aimed to get isolates of the most frequent soil fungi associated to the cultures of blackberry (*Rubus* sp.), raspberry (*Rubus idaeaus*) and blueberry (*Vaccinium* spp.) at integrated and conventional management, in an Oxisol, located in Vacaria, Southern of Brazil. Soil samples were obtained always in the morning, in four spots and four dates in June 2008 and March 2009. They were diluted until 10^{-3} , placed within Petri dishes (9 cm diameter) containing PDA (potato-dextrose-agar) culture medium and antibiotic. Subsequently, they were submitted to incubation at 25°C during 12 hours of photoperiod throughout seven days. The highest incidence isolated of fungi belong to the genus *Penicillium* sp and *Aspergillus* sp and antagonistic *Clonostachys rosea* and *Trichoderma* sp. The colonies identified morphologically were purified and compared quantitatively as for the management method that they had been plants submitted. The fungi *Clonostachys rosea* and *Trichoderma* sp. were isolated in four soils, in each of the three cultures conducted on the integrated management, and has not been isolated in soils conducted under conventional. *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp. appeared constantly in soils of all cultures, regardless of management used.

KEY WORDS: Soil fungi, isolated, small fruit

Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor de frutas no ranking mundial, entretanto com uma pequena participação no mercado internacional, cuja exportação vem aumentando aos poucos nos últimos anos com cadeias produtivas investindo em tecnologias buscando principalmente qualidade (REETZ, et al., 2007). Os pequenos frutos conhecidos como berries, estão entre os sistemas de produção com franca ascendências nas regiões de maior altitude e clima frio do Brasil.

A amora (*Rubus fruticosus*) e a framboesa (*Rubus idaeus*) são frutos agregados ou mini drupas vermelhas (ANTUNES et al., 2002), de plantas angiospermas dicotiledôneas, ordem das Rosales, família Rosáceas e gênero *Rubus*, com reprodução vegetativa ou sexuada. A amora preta ou Tupi difundida em várias regiões do mundo que teve impulso no Brasil na década de 70 destaca-se no momento atual, não só pelo sabor como também por seu poder terapêutico, rica em vitamina E, C, e substâncias antioxidantes (SALGADO, 2003).

A framboesa habitante natural do hemisfério Norte que foi introduzida inicialmente em Campos do Jordão, SP, além de ser apreciada por seu sabor e perfume característico, é considerada antioxidante (SALGADO, 2003) e seus frutos vermelhos vêm sendo considerados de grande importância para estudos, como agentes produtores de substâncias químico preventivas contra o câncer (WARGOVICH, 2006).

O mirtilo (*vaccinium* spp) cujo fruto é uma baga de sabor agridoce, com cor que varia do azul claro ao azul escuro, é uma planta do tipo arbustiva que pode alcançar desde alguns centímetros de altura a espécies de até 4m. Pertencente a família Ericaceae (PAGOT, E. 2006), reproduz-se por propagação de clones. Embora ainda pouco conhecida no Brasil, vem sendo uma boa alternativa para os pequenos produtores de algumas regiões sul e sudeste, por ser uma fruta muito apreciada não só pelo sabor exótico como

também pelos poderes medicinais e alto valor econômico (ANTUNES, 2002), além de ampliar espaço para exportação onde nos EUA é o terceiro suco mais consumido.

A amora-preta e a framboesa desenvolvem-se em quase todo tipo de solo, mas os solos ligeiramente ácidos com pH em torno de 5,5 a 6,0 são os melhores, enquanto que a temperatura mais fria é a preferida. Já o mirtilo oriundo do sul dos Estados Unidos requer um solo um pouco mais ácido com pH entre 5,0 e 5,5, poroso com agregação de casca de pinus ou serragem em decomposição e uma necessidade baixa de frio, em torno de 600 hs anuais O estabelecimento das mudas nos solos manejados para seu melhor desenvolvimento deve seguir fileiras simples, o que propicia uma facilidade em manejo posterior ao plantio e controle de doenças (PAGOT, 2006).

Na região sul do país os pequenos frutos encontraram situações favoráveis ao seu desenvolvimento, estando às áreas de maior cultivo concentradas nas regiões de Vacaria, Feliz e Pelotas (ANTUNES et al., 2002). Segundo a EMATER/RS-ASCAR (2010), somente nos campos de cima da serra, que compreendem os municípios de Vacaria, Campestre da Serra e Ipê, cujo solo e temperatura se ajustam bem as necessidades destes frutos o total de produção de amora preta passou de 380 em 2005 para 1972 toneladas em 2009; a framboesa de 45 a 81 toneladas e o mirtilo de 32 a 62 toneladas. No entanto, estas culturas são atacadas por diversas doenças causadas por vários microrganismos patogênicos cuja incidência pode ser reduzida com um manejo adequado de manutenção da diversidade da microbiota associada, utilizando-as como instrumentos de biocontrole. Porém a manutenção e o uso da biodiversidade com finalidades econômicas e sociais ainda é um desafio a enfrentar (MELO, 1996), embora o uso de microrganismos como agentes de controle

biológico, com o objetivo de minimizar danos e prejuízos a cultivos agrícolas já venha sendo fonte de estudo ao longo do tempo por diversos autores (TRONSNO, 1991; ANDREWS, 1992; SUTON & YU, 1997; FORTES, 2007).

Muitos microrganismos se encontram concentrados no solo rizosférico devido ao aumento de disponibilidade de substrato (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). A exportação de nutrientes nas colheitas (NEVES & RUMJANECK in MELO & AZEVEDO, 1998) aliados a fatores químicos de manejo pode alterar o equilíbrio dinâmico destes microrganismos, sendo a perda da microbiota extremamente danosa, o que leva a desequilíbrios biológicos que podem determinar a extinção de plantas e animais (MELO & AZEVEDO 1998). Vários microrganismos de solo apresentam reações de antagonismo a patógenos mantendo em equilíbrio estas populações, sendo que estudos apontam que o maior controle é apresentado na cultura de origem dos mesmos (ZAMBONI-PINOTTI, 2005).

O solo visto como um componente crítico na biosfera terrestre funciona não só como sistema de produção agrícola, mas também na manutenção da qualidade ambiental com efeito local e regional, podendo ser caracterizado como um corpo natural organizado, vivo e dinâmico que desempenha inúmeras funções no ecossistema terrestre (REETZ, 2007). O manejo do solo é, portanto sinônimo de fertilidade e extremamente importante quando se trata de microrganismos relacionados a diferentes culturas que se encontram neste. Esta enorme diversidade microbiana interligada entre si sofre em condições adversas que podem ocasionar a seleção dos mais resistentes, determinando perdas de espécies importantes ao desenvolvimento destas culturas. Dentre os microrganismos de solo, a biomassa fúngica é predominante (KURAKOV et al., 2008) e nela se encontram várias espécies com potencial antagonico e de promoção de crescimento, entre outros.

Fungos filamentosos do gênero *Penicillium* sp., produzem micotoxinas do tipo patulia, ocratoxina, citrinina, penitrina a e ácido ciclopiazóico A; enquanto Fungos filamentosos do gênero *Aspergillus*, produzem micotoxinas do tipo aflatoxina B1, G1, M1, ocratoxina a, easterigmatocistina e ácido clicopiazóico (STEYN, 1995). Estas substâncias são sendo consumidas de forma involuntária, tendo efeitos tóxicos para consumo em produtos agro-alimentares sendo ainda carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos, citotóxicos, neurotóxicos, nefrotóxicos e imunodepressores (ROBISON et al., 2000). O crescimento destes fungos micogênicos e a produção de micotoxinas dependem das complexas relações existentes entre fungo, substrato e ambiente. Por outro lado, estes mesmos fungos quando presente em solos corretamente manejados, sem excessos químicos, tem efeito positivo no desenvolvimento de culturas, como o fungo *penicillium* sp estudado como promotor de crescimento (KOIKE et al., 2001). Além disto, os fungos destes gêneros apresentam capacidade de adsorção relativa de metais pesados em água e solos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006) e são capazes de solubilizar fosfatos (RAO et al., 1983) Em relação aos nutrientes para as plantas, fungos do gênero *Aspergillus* estão envolvidos na mineralização de pequena quantidade de N- orgânico na forma de proteínas, peptídios, amidas e amidinas.

Espécies de *Trichoderma* são consideradas eficientes antagonistas contra uma série de fungos fitopatogênicos do solo (WELLS, 1988; MARTINS-CORDER & MELO, 1998 ; LISBOA et al., 2007) usados na promoção de enraizamento (FORTES et al., 2007), atuando tanto pela produção de compostos metabólitos, como antibióticos e enzimas extracelulares. Produzem compostos voláteis e não voláteis capazes de inibir o crescimento de uma série de fungos (DENNIS & WEBESTER, 1971 a, 1971 b) por competição por

nutrientes, espaço e oxigênio (CHET, 1987). *Trichoderma* é ainda considerado promotor de crescimento de plantas (BARNET & HUNTER, 1972) e contribui na oxidação do enxofre (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). *Trichoderma* sp. e *Clonostachys rosea*, são usados em tratamento de sementes (CELAR & VALIC, 2005).

O fungo *Clonostachys rosea* (Link: Fr.), Deuteromiceto, sub-classe Hifomicetos Gloisporai (CAPIEAU et al., 2004), isolado primeiramente de morangueiros na Universidade de Guelph, Canadá, em junho de 1993, é citado como antagonístico a *B. cinerea* em diversas culturas (SUTTON, 1994; VALDEBENITO-SANHUEZA, 1997; HUNG et al., 2002; MORANDI et al., 2003, YAHALLEN, 2003; YAHALLEN et al., 2004, CAPIAU et al., 2004; NOBRE et al., 2005; ZAMBONI-PINOTTI, et al., 2005). Habitantes naturais do solo podem viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos como *B. cinerea* (MORANDI et al., 2003), competindo por nutrientes (NOBRE et al., 2005), sem causar sintomas de moléstia (SUTON, 1994).

Este trabalho visou o isolamento e caracterização morfológica de fungos benéficos presentes em um Latossolo Bruno sob cultivo de amora, framboesa e mirtilo, relacionando a frequência fúngica às condições químicas e manejo do solo.

Material e métodos

Caracterização da região em amostra

O solo de Vacaria é classificado como Latossolo Bruno bem intemperizado e ácido, exceto em poucos locais, como junto aos rios (ALMEIDA, 2006), onde o clima pode ser classificado pelos critérios internacionais propostos por Köppen, como Cfb (f: chuvas bem distribuídas; b: temperatura do mês mais quente com média inferior a 22°C e C :quantidade de insolação da área em relação ao globo) Apresentando precipitação acima de 1.538 mm bem distribuídos nos meses do ano, verão ameno com temperatura

média para janeiro fevereiro de 20°C e para os meses mais frios de junho e julho média inferior a 10°C (EMATER/RS- ASCAR). O clima úmido confere acidez aos horizontes superficiais do solo, devido a lixiviação e decomposição da serrapilheira (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Caracterização dos pomares amostrados

As coletas de solo cultivados com plantas de amoreira, framboeseiro e mirtilheiro para análise de ocorrência fúngica, realizadas em Latossolo Bruno da região dos Campos de Cima da Serra da cidade de Vacaria, RS, foram realizadas em quatro pontos em torno da sede ou ponto zero, escolhidos de modo a se obter uma boa representatividade do solo com estas culturas sob controle integrado e convencional da região, distribuídos da seguinte forma: Pontos A1R, F2R, distância 18 Km, altitude de 950m; Pontos M3I, A4I, F5I, distância 7 Km, altitude de 957m; Pontos F6M, A7M, distância 19 Km, altitude de 963m; Ponto M8V: distância 10 Km, altitude de 963m, conforme visualizado no mapa em anexo (figura 1)

Os solos de cada ponto de coleta foram identificados por letras indicativas das culturas (A=Amora; F= Framboesa; M= Mirtilo) em estudo, antecedendo números de 1 a 8 que foram seguidos de letras de acordo com o local de implantação de cada cultura, sendo os pontos A1R, A4I e A7M cultivados com Amora Tupy; F2R, F5I e F6M cultivados com Framboesa Heritage e os pontos M3I e M8V cultivados com mirtilo Raibash Duck.

As culturas estabelecidas nos solos A1R, A4I, F6M e M8V, são anualmente tratadas com adubo orgânico oriundo de aviários, adubo foliar do tipo fosfite, sem utilização de defensivos químicos, definidas como pomares de cultivo integrado, enquanto as estabelecidas nos solos M3I, F5I, F2R e A7M, são tratadas com agrotóxicos (não relacionados pelos produtores), definidas como pomares de cultivo convencional.

Análises químicas

Análises químicas das amostras de cada solo coletada foram realizadas pelo Laboratório de Rotina de Solos da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV- UDESC), seguindo metodologias propostas por Tedesco, et al. (1995).

Coleta de solo para análise

Em cada ponto de coleta foram estabelecidos blocos compostos por fileiras, onde as plantas foram escolhidas de forma aleatória para cada coleta realizada junto às raízes das plantas, utilizando cilindros de metal de 6 cm de diâmetro por 6 cm de altura identificados para cada solo, tendo o cuidado de retirar anteriormente a cobertura orgânica, de modo a expor o solo abaixo desta. A amostragem foi realizada sempre pela manhã em dias secos, em quatro diferentes épocas (E) distribuídas nos meses junho, outubro e dezembro de 2008 a fevereiro de 2009, sendo que as temperaturas do ar nestas datas foram de

6°C, 25°C, 26°C e 30 °C. As amostras obtidas foram mantidas em geladeira até o momento das análises em laboratório devido ao fato destas serem efetuadas em dia posterior ao da coleta.

Quantificação de fungos, análise morfológica e estatística

A quantificação de fungos das amostras de solo coletadas foi realizada através do método de diluição seriada. Esta consistiu na diluição progressiva de uma solução de cada amostra de solo coletada, em triplicata. Para isto foram utilizadas 9 gramas de solo suspensos em 90 ml de solução salina a 9% (9g de NaCl em 1L de H₂O destilada e esterilizada). A solução obtida foi agitada por 10 minutos e diluída em água esterilizada em fator 10, dispoendo posteriormente alíquotas de 0,1 ml da diluição de 10⁻³ em placas de Petri esterilizadas, preparadas com o meio de cultura seletivo do tipo BDA (batata+ dextrose + Agar) autoclavado, acrescido de antibiótico do tipo Streptomcina (0,3g para 500mL de água destilada



Figura 1: Pontos de coleta de solo para isolamento de fungos mais freqüentes em solos com culturas de amora, framboesa e mirtilo.

e esterilizada). As placas foram levadas a estufa do tipo BOD, com fotoperíodo de 12 h, temperatura de 25°C por sete dias.

Após a retirada das placas da estufa o crescimento fúngico foi observado e as colônias surgidas em maior número, analisadas morfológicamente segundo Barnett & Hunter (1972) e quantificadas em UFC (Unidades Formadoras de Colônia) de acordo com Standart methods - método 9215 (2005).

As análises estatísticas foram realizada, após transformação dos valores para escala logarítmica - $\ln(X + 1)$, estabilizando-os

Resultados e discussão

As características biológicas de fungos são influenciadas quando as amostragens são feitas em camadas superficiais do solo; onde as condições climáticas e de umidade sofrem variações. São nestas camadas que ocorrem maior atividade microbiana devido ao constante depósito de material orgânico sobre o solo (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), constatado neste trabalho em todos os cultivares analisados, tanto com manejo integrado como em manejo convencional.

A presença de microrganismos em um determinado solo é função das condições ambientais intrinsecamente relacionadas. Mesmo sob acidez existente na região, a biomassa microbiana se encontra adaptada, sendo inibida apenas com pH 2,0 e 3,0 considerado muito baixo, o que pode ser determinado por alto teor de Alumínio. A acidez de todos os solos analisados, neste trabalho, ficou em torno de pH 4.5 a 7.0, não chegando ao limite considerado de inibição da microbiota associada. Os solos A1R e A2R apresentam pH acima da necessidade das plantas por terem sido calcareados anteriormente a implantação dos pomares sem controle agrônômico. Os demais solos apresentam pH de acordo com as necessidades das culturas implantadas (Tabela 1).

Alguns gêneros de fungos apresentam espécies representativas na maioria dos tipos de solo, como os Deuteromicetos (fungos Mitospóricos) dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (MACHERONI et al., in ESPOSITO & AZEVEDO 2004),

Nas placas de Petri incubadas com amostras diluídas de solo na 103, provenientes dos

Tabela 1: Caracterização química dos solos em estudo com culturas estabelecidas de amora, framboesa e mirtilo.

<i>Amostra</i>	<i>*pH</i>	<i>P</i>	<i>K</i>	<i>Na</i>	<i>M.O.</i>	<i>H</i>	<i>Al</i>	<i>Al</i>	<i>Mg</i>	<i>Ca</i>
		<i>kg/ dm³</i>			<i>%</i>			<i>Cmol./ dm³</i>		
A1R	7.0	43.9	151	9.0	4.0	0.6	0.0	10.7	6.3	
F2R	7.0	80.0	578	15.0	6.4	1.0	0.0	11.0	7.0	
M3I	4.8	>80	457	32.0	12.5	15.1	0.6	11.6	3.9	
A4I	6.7	>80	600	65.0	8.8	2.5	0.0	12.4	6.5	
F5I	6.6	52.5	560.0	18.0	5.9	2.5	0.0	11.3	6.6	
F6M	6.1	0.8	354	10.0	5.3	1.7	0.0	6.6	3.6	
A7M	4.8	1.3	97.0	5.0	4.2	2.5	0.4	3.5	2.1	
M8V	5.2	44.0	181	10.0	3.9	7.0	0.0	6.0	3.5	

*O pH foi medido em H₂O

Isolamento de fungos

cultivares em estudo, foi possível observar uma maior incidência de fungos pertencentes aos gêneros *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp e dos antagonistas *Clonostachys rosea* e *Trichoderma* sp. É sabido que logo após a incubação em condições adequadas, cada célula viável dará origem a uma colônia de organismos. Os resultados estão expressos em Unidades Formadoras de Colônia embora sabendo que as células tendem a se agregar, formando micélio ou pseudomicélio, tornando difícil separar as unidades, sendo que uma UFC pode se originar de várias células (GALVAGNO & FORCHIASSIN in ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

As colônias foram quantificadas em lupa de 40 aumentos a partir de sua origem central o que possibilitou uma contagem mais fiel dentro da limitação imposta pela formação de micélios (Tabela 2).

De acordo com Klinch (2002), fungos do gênero *Aspergillus* sp. vêm sendo isolados com frequência em áreas quentes, cultivadas e florestas tropicais embora neste trabalho tenha mostrado o mesmo comportamento para todas as épocas de

coleta evidenciando a diminuição de UFC deste fungo em amostras dos solos F6M8 e AR1 conduzidos com manejo integrado (Tabelas 3 e Gráfico 1).

Para Kuter (1986), fungos como o *Penicillium* sp e *C. rosea* predominam em processos de decomposição de serrapilheira. Na soma total de fungos coletados, o *Penicillium* sp apresentou maior quantidade de UFC em relação aos demais, em todas as unidades de coleta exceto em M8V. A quantidade média deste fungo se mostrou constante nas avaliações das três culturas (Tabela 3 e Gráfico 2), podendo ser explicado pela presença de serrapilheira nos solos amostrados.

O fungo *C. rosea* embora encontrado comumente no solo com serrapilheira (KUTER, 1986), é mais encontrado colonizando raízes, estames, folhas e sementes de plantas Sutton et al., (1997). Isto pode explicar a pouca incidência deste nas amostras de solo coletadas e somente em culturas de manejo integrado com maior deposição orgânica. Nas amostras de solo correspondente aos pomares de amora, A1R e A41 conduzidos por controle integrado, o fungo foi

Tabela 2: Total das quatro avaliações de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de Fungos isolados de solo próximo a culturas de amora, framboesa e mirtilo e pH destes solos.

Unidades de coleta/ pH	Fungos mais representativos avaliados (UFC)				
	<i>Penicillium</i> sp	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Clonostachys</i> rosea	<i>Trichoderma</i> sp	Outros
A1R pH 7.0	1,23 X 10 ⁸	1,9 X10 ⁷	4,0 X10 ⁶	3,0 X10 ⁶	4,7 X10 ⁷
F2R pH 7.0	1,52 X10 ⁸	2,0 X10 ⁷	zero	zero	4,5 X10 ⁷
M8V pH 5.2	9,9 X 10 ⁷	1,0 X10 ⁷	3,0 X 10 ⁶	5,0 X10 ⁶	3,2 X 10 ⁷
A4I pH 6.7	9,1 X10 ⁷	1,1 X10 ⁷	3,8 X10 ⁷	3,8 X10 ⁷	1,8 X10 ⁷
F6M pH 6.1	9,2 X 10 ⁷	1,1 X10 ⁶	1,0 X 10 ⁶	1,0 X 10 ⁶	4,1 X10 ⁷
F5I pH 6.6	1,64 X10 ⁸	3,5 X10 ⁷	zero	zero	5,5 X10 ⁷
A7M pH 4.8	1,32 X10 ⁸	3 X10 ⁷	zero	zero	1,5 X 10 ⁶
M3I pH 4.8	1,63 X10 ⁸	2,4 X10 ⁷	zero	1,0 X10 ⁴	4,0 X 10 ⁶

encontrado em alta concentração em todas as datas de avaliação. Estes dois pomares não apresentaram sintomas de mofo cinzento causado pelo fungo necrotófico *Botrytis cinerea*, podendo

ser explicado pela continuidade de colonização de *C. rosea* antagonico a este fungo. Os solos de controle convencional, não apresentaram *C. rosea* em nenhuma data coleta, podendo ter sido inibido

Tabela 3: Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de Fungos isolados de solo próximo a culturas de amora, framboesa e mirtilo em quatro datas de coleta.

Unidade de coleta	Coletas	Fungos mais representativos avaliados (UFC) em quatro datas de coleta				
		<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>C.rosea</i>	<i>Trichoderma</i>	outros
A1R	1	1,4 X10 ⁷	2,0X10 ⁶	1,0X10 ⁶	zero	9,0 X10 ⁶
	2	3,0X10 ⁶	zero	1,0X10 ⁶	zero	zero
	3	5,6X10 ⁷	8,0X10 ⁶	1,0X10 ⁶	3,0X10 ⁶	4,0X10 ⁶
	4	5,0X10 ⁷	9,0X10 ⁶	1,0X10 ⁶	zero	3,4X10 ⁷
A4I	1	2,0X10 ⁷	2,0X10 ⁶	3,8 X10 ⁷	zero	5,0X10 ⁶
	2	5,0X10 ⁶	3,0X10 ⁶	zero	zero	9,0X10 ⁶
	3	6,5,0X10 ⁷	4,0X10 ⁶	zero	zero	2,0X10 ⁶
	4	1,0X10 ⁶	2,0X10 ⁶	zero	3,8X10 ⁷	2,0X10 ⁶
A7M	1	1,0X10 ⁷	4,0X10 ⁶	zero	zero	7,0X10 ⁶
	2	3,0X10 ⁶	5,0X10 ⁶	zero	zero	7,0X10 ⁶
	3	1,03X10 ⁷	1,0X10 ⁷	zero	zero	zero
	4	1,06X10 ⁸	1,1X10 ⁶	zero	zero	1,0X10 ⁵
F2R	1	2,0X10 ⁸	1,0X10 ⁷	zero	zero	2,6X10 ⁷
	2	1,2X10 ⁷	1,0X10 ⁶	zero	zero	8,0X10 ⁶
	3	1,06X10 ⁸	1,02X10 ⁷	zero	zero	1,0X10 ⁶
	4	1,4X10 ⁷	6,0X10 ⁶	zero	zero	1,0X10 ⁷
F6M	1	1,0X10 ⁷	zero	zero	zero	2,7X10 ⁸
	2	1,7X10 ⁷	zero	zero	zero	1,0X10 ⁷
	3	5,8X10 ⁷	Zero	1,0X10 ⁶	1,0X10 ⁶	1,0X10 ⁶
	4	7,0X10 ⁶	zero	zero	1,0X10 ⁶	2,0X10 ⁶
F5I	1	1,2X10 ⁷	2,0X10 ⁶	zero	zero	3,5X10 ⁷
	2	1,5X10 ⁷	1,0X10 ⁷	zero	zero	6,5X10 ⁷
	3	1,15X10 ⁸	3,0X10 ⁶	zero	zero	zero
	4	2,2X10 ⁷	2,0X10 ⁷	zero	zero	5,5X10 ⁷
M8V	1	3,0X10 ⁷	5,0X10 ⁶	zero	zero	2,1X10 ⁷
	2	5,0X10 ⁶	zero	zero	zero	5,0X10 ⁶
	3	6,3X10 ⁷	1,0X10 ⁶	3,0X10 ⁶	2,0X10 ⁶	5,0X10 ⁶
	4	zero	zero	zero	3,8X10 ⁷	Zero
M3I	1	1,0X10 ⁷	1,2X10 ⁷	zero	zero	1,0X10 ⁶
	2	5,0X10 ⁶	zero	zero	zero	2,0X10 ⁶
	3	6,0X10 ⁷	8,0X10 ⁶	zero	zero	zero
	4	4,3X10 ⁷	4,0X10 ⁶	zero	1,0X10 ⁴	1,0X10 ⁶

Isolamento de fungos

pelo uso de supressores microbianos. No cultivo de framboesa este fungo foi encontrado em F6M e em mirtilo no pomar M8V, ambos conduzidos com manejo integrado (Tabela 3 e Gráfico 3).

Mesmo sendo um fungo comum em solo (MACCHERONI et al., in ESPOSITO & AZEVEDO, 2004), o fungo *Trichoderma* sp. aparece em todos os pomares de manejo integrado nas datas de

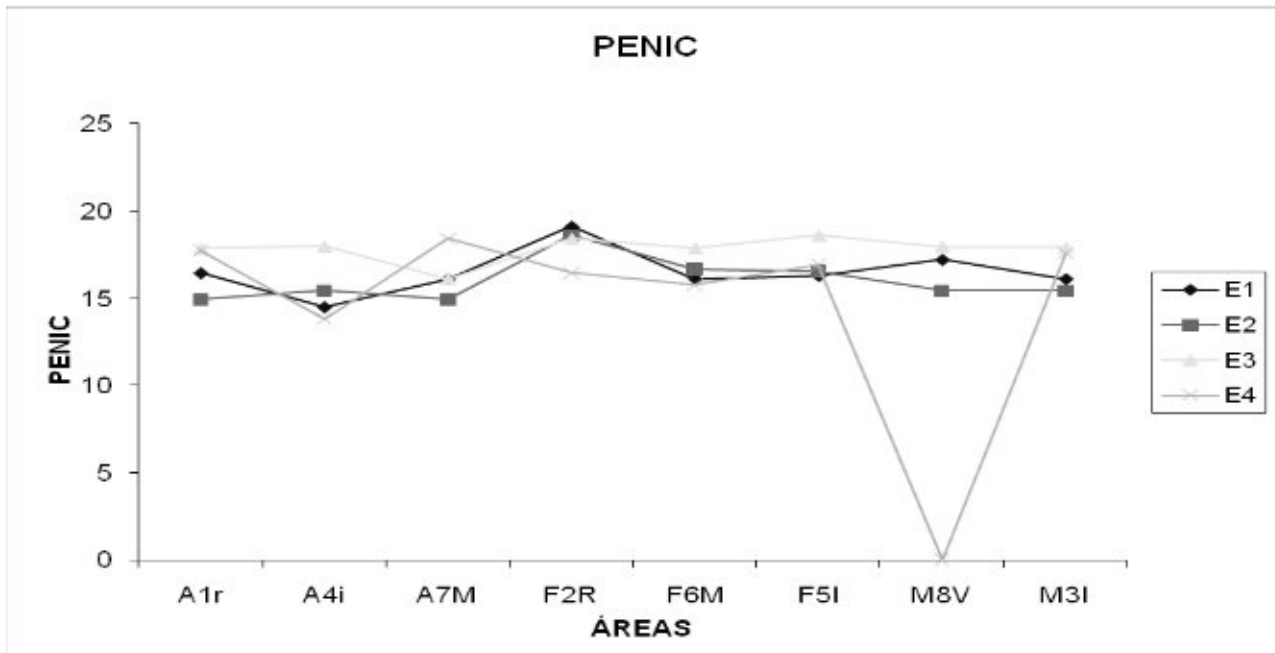


Gráfico 1: Comportamento do fungo *Penicillium* sp. em cada época e local de coleta. Épocas e temperaturas: E1: 6°C; E2: 25°C; E3: 26°C; E4: 30°C

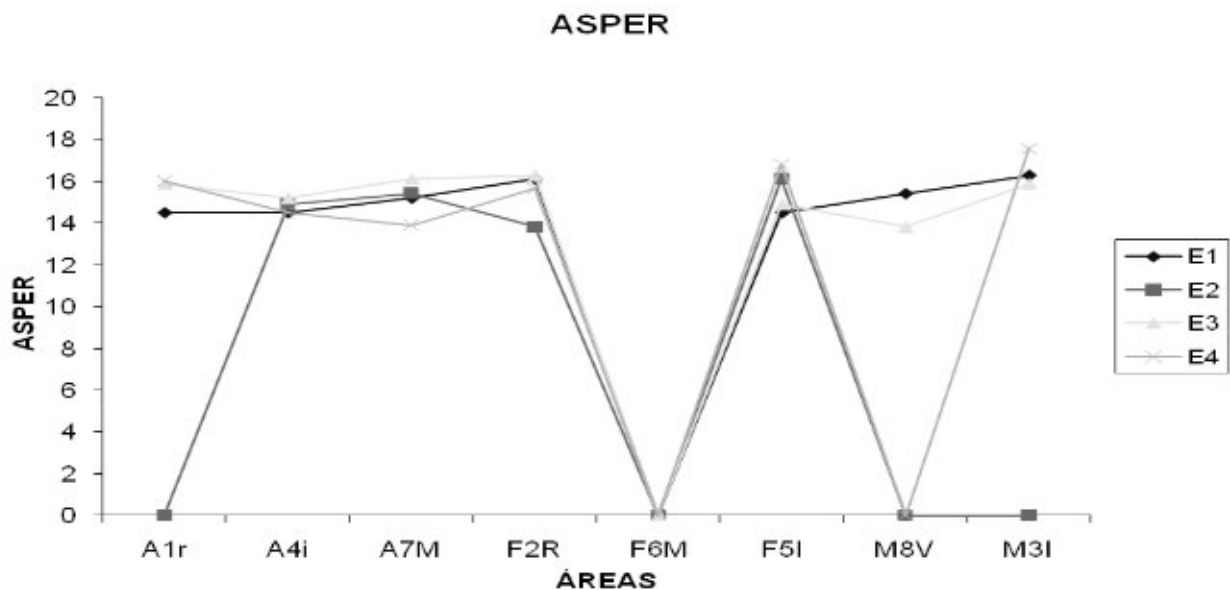


Gráfico 2: Comportamento do fungo *Aspergillus* sp. em cada época e local de coleta. Épocas e temperaturas: E1: 6°C; E2: 25°C; E3: 26°C; E4: 30°C

maior temperatura sendo que nos pomares de manejo convencional aparece somente em M31 na data de coleta de maior temperatura porém com menor incidência podendo ter sido inibido nos

demaís solos pelo uso de supressores microbianos (Tabela 3 e Gráfico 4).

Como não foram feitas repetições das coletas em ano posterior, não há como analisar

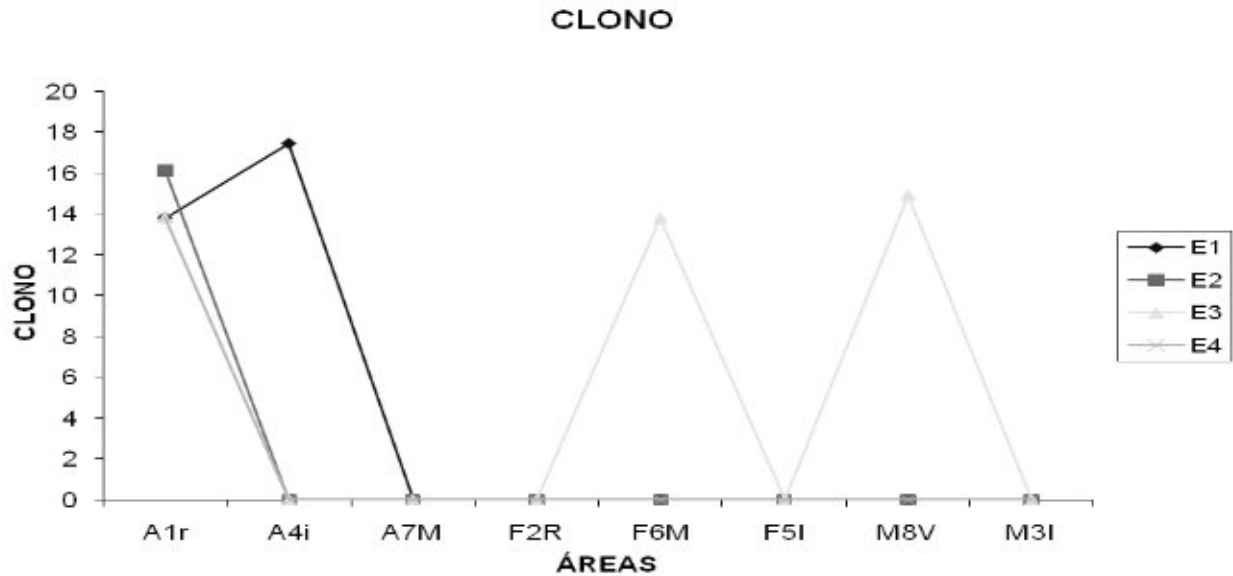


Gráfico 3: Comportamento do fungo *Clonostachys rosea* em cada época e local de coleta. Épocas e temperaturas: E1: 6°C; E2:25°C; E3: 26°C; E4: 30°C

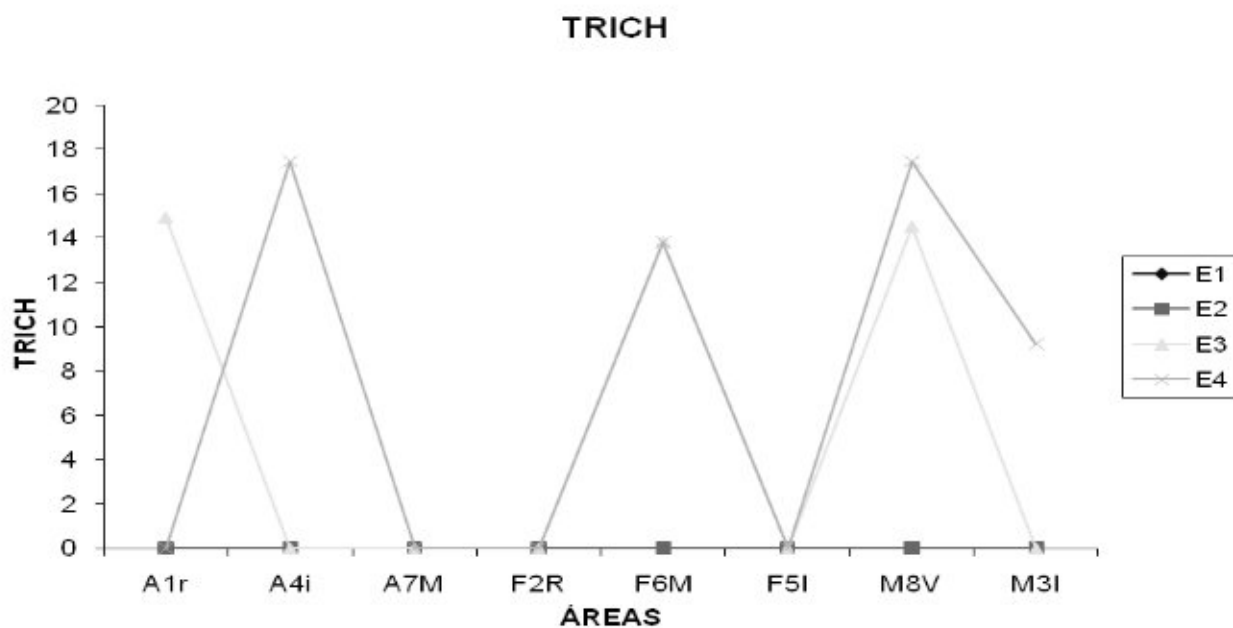


Gráfico 4: Comportamento do fungo *Trichoderma* sp. em cada época e local de coleta. Épocas e temperaturas: E1: 6°C; E2:25°C; E3: 26°C; E4: 30°C

Isolamento de fungos

estatisticamente o efeito de épocas. Dessa forma, os valores foram transformados para escala logarítmica, para estabilizá-los $-\ln(X + 1)$, tornando possível demonstrar o comportamento de cada grupo, em cada época e local. Baseado na distancia euclidiana e método de agrupamento do vizinho mais distante, das áreas e épocas. foi possível demonstrar em um dendrograma a similaridade entre as amostras: Sendo que quanto menor a distancia maior similaridade nestas, considerando todos os grupos conjuntamente (Gráfico 5).

Conclusões

De acordo com as condições com que foi conduzido este experimento é possível concluir que:

- Os fungos miceliais mais freqüentes isolados das amostras de solo com culturas estabelecidas

de amora, framboesa e mirtilo coletadas, foram caracterizados morfológicamente como *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Clonostachys rosea* e *Trichoderma* sp..

- Os fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. são os isolados com maior incidência, sendo *Penicillium* sp. encontrado em todas as datas de coletas para todas as culturas, tanto em manejo integrado, quanto em manejo convencional, exceto em M8V.

- As diferentes temperaturas observadas no surgimento de isolados de *Trichoderma* sp. e *Clonostachys rosea* em todas as culturas, não parece ter tido influência sobre a quantidade de UFC em solos conduzidos com manejo integrado, durante o ano em que foram realizadas as coletas.

- Do solo M8V de manejo integrado e pH 5.2 foram isolados *Trichoderma* e *C.rosea* somente nas temperaturas mais elevadas.

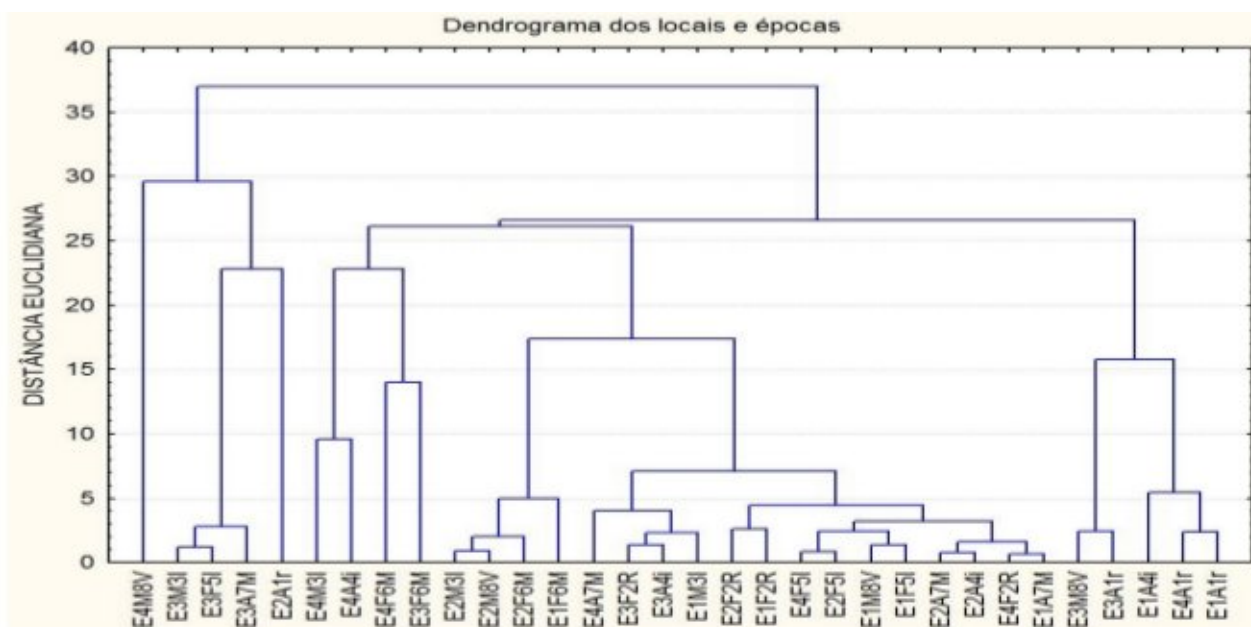


Gráfico 5: Dendrograma baseado na distância euclidiana e método de agrupamento do vizinho mais distante, das áreas e épocas.

E: Época

Locais: M31, M8V, A7M, A41, A1R, F2R, F51, F6M.

- O solo A1R com pH 7 conduzido com manejo integrado de amora, apresentou UFC de *C. rosea* em todas as coletas, independentemente da temperatura enquanto que para o solo A4I para

a mesma cultura em manejo integrado este fungo só foi encontrado na menor temperatura de coleta não sendo encontrado e A7M com o mesmo manejo.

- O solo F6M com cultura de framboesa conduzida por manejo integrado apresentou a menor incidência de *Trichoderma* e *C.rosea* em relação às culturas de amora e mirtilo.

- Os solos F51 e F2R com cultura de framboesa conduzida por manejo convencional, não apresentaram *Trichoderma* e *C.rosea* em nenhuma data de avaliação.

- Os antagonistas *Trichoderma* sp. e *C.rosea* foram encontrados com maior frequência nos pomares conduzidos por manejo integrado.

Referências Bibliográficas:

ALMEIDA, J.A. II Fatores Abióticos . In: BOLDRINI, I.I. (coord.) **Relatório final do Subprojeto Biodiversidade dos Campos do Planalto das Araucárias**. (MMA/ MCT/ PROBIO 02/2001) Porto Alegre, RS. 2006.p 11-30.

ANDREWS, J.H.; Biological control in the phyllosphere. **Annual review of Phytopatology**, St Paul, v.30, n.1, p. 603-635, 1992.

ANTUNES, L.E.C.; REGINA, M.A.; DUARTE FILHO, J. **A cultura da amora preta**. Boletim Técnico EPAMIG, Minas Gerais. 69: 11-15. 2002.

BARNET, H.L.; HUNTER, B.B.. **Effects of *Trichoderma* spp. And *Gliocladium roseum* culture filtrates on seed germination of vegetables and maize**. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3^a ed. Ed Burgess Publishing Company.1972.

CAPIEAU, K.; STENLID, J; STENTÖM, E.. Potential for biological control of *Botrytis cinerea* in *Pinus sylvestris* seedlings.. **Scandial Journal of Forest research**. V.19. p. 312-319. 2004.

CELAR, F.; VALIC, N. University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Agronomy Department, Institute of Phytomedicine, Standart Methods-

Método 9215 B/2005 21^a edição/ WEF, AWWA, APHA- INMETRO- escopo da acreditação- ABNT NBR, ISSO/ IEC 17025- Ensaio. 2005

CHET, I. *Trichoderma*: application, mode of action, and potentialas a Gcontrolé agente soilborne plant pathology fungi. In:CHET, I. **Innovative approaches to plant diseases control** . Series in ecological and Applied microbiology,. N.York,: WILEY & SONS: 1987, p. 137-160.

DENIS, C.;WEBSTER,J. Antagonistic proprieties of species-groups of *Trichoderma*,. 1971.

1971.a. Production on non volatiles antibiotics. **Transactions of the British Mycolycal Society**, Cambridge, v. 57, p. 25-39.

1971.b. Production of volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycolycal Society**, Cambridge, v. 57, p.41-48.

EMATER/RS-ASCAR. Associação Riograndense de Empreendimento e Assistência Técnica e Extensão Rural. **Diagnóstico da Fruticultura**. Vacaria: EMATER/RS- ASCAR, 2010.

FORTES, F. O.;SILVA, A. C. F.; ALMANÇA,M.A.K.; TEDESCO, S.B. Promoção de enraizamento de microestacas de um clone de Eucalyptus G. Por trichoderma G. **Revista Árvore**. Viçosa . V.31, n. 2. 2007.

GALVAGNO,M. A.; FORCHIASSIM, F. Fisiologia dos Fungos: Nutrição e Metabolismo. In AZEVEDO, J.L. & ESPOSITO,E.. **Fungos: Uma introdução a Biologia, Bioquímica e Biotecnologia**. Caxias do Sul. EDUCS. 2004, P125- 169.

HUNG, H.C.; LI, G. Q., KORKKO, E. G.; ACHARYA, S. N. Mycoparasitism of *Gliocladium roseum* on *Botrytis cinerea*: Ultrastrutural study of mycoparasitism of *Gliocladium roseum* on *Botrytis cinerea*. Agriculture and Agri-food Canada, Lethbridge research Centre, P.O.Box 3000, Lethbridge, Alberta T1J 4B1, **Canadá. Bot Bull. Acad.** 2002, V.43: p. 11-218

KOIKE, N.; HYAKUMACHI, M.; KAGEYAMA, K.; TSUYUMU, S.; DOKE, N. Induction of Systemic Resistance in Cucumber against Several Diseases by Plant Growth-promoting Fungi: controlens and Superoxide Generation. **European Journal of Plant Pathology** .2001, Vol. 107, n.5, p. 523-533.

KLIMCH, M. A. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. **Mycologia**, 2002, v.94, p.21-27.

KURAKOV, A. V.; NECHITAILO, T. Yu.; GOLYSHIN, P. N.; ZVYAGINTSEV, D.G.

- diversity of facultatively anaerobic microscopic Mycelial Fungi in Soils. **Microbiology**, vol. 77, Nº1, pp 90-98. 2008
- KUTER, G. A.. Microfungal populations associated with the decomposition of sugar maple leaf of litter. **Mycologia**, 1986, v.78, p.114-126.
- LISBOA, B.B.; BOCHESSE, C.C.; VARGAS, L.K.; SILVEIRA, J.R.P.; RADIN, B.; OLIVEIRA, A. M. R. . Eficiência de *Trichoderma harzium* e *Gliocladium viride* na redução da incidência de *Botrytis cinerea* em tomateiro cultivado sob ambiente protegido. **Ciência rural**. Sta Maria.2007, v. 37, n.5, p.1255-1260.
- MACCHERONI, Jr. W.; ARAÚJO,W.L.; LIMA, A.O.S. Ecologia: Habitat e interações fúngicas com plantas, animais, fungos e bactérias. In AZEVEDO, J.L. & ESPOSITO, E.. **Fungos: Uma introdução a Biologia, Bioquímica e Biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS. 2004, p.451- 490.
- MARTINS-CORDER, M.P.; MELO, I. S.; Kleb.. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae*. **Scientia Agricola**. Jaguariuna, SP. V. 55, n. 1, 1998.
- MELO I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetor de plantas. **Revisão anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 1996, v.4, p.261-295.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J.O.. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2ªed, Lavras MG: Ed UFLA, 2006, v.7, p.98.il.
- MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, Z. A.; MIZUBUTI, E. G.; ALFENAS, A .C.; BARBOSA, J. G.. Supression of *Botrytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris. A valuable component B. blight management in commercial greenhouses. **Biological Control** . v.26, p. 311-317. 2003
- NEVES, M. C. P.; RUNJANEK, N.: Ecologia das bactérias diazotróficas em solos tropicais. In: MELO, Itamar Soares & AZEVEDO, João Lúcio. **Ecologia Microbiana**. EMBRAPA Jaquariúna: .Ed Ecologia, 1998,488p
- PAGOT, E. . **Cultivo de pequenas frutas: amora preta, Framboesa e Mirtilo**. Porto Alegre: EMATER/ RS- ASCAR, 2006, p.41.:G.
- RAO, P.S.C.; MANSELL, R.S.; BALDWIN, L.B.; LAURENT, M.F. Pesticids and their behavior in soil and water. **Soil Science Fact Sheet**. 1983
- REETZ, E.R. et al. (2007). **Anuário brasileiro de fruticultura 2007 / ERNA**. Santa Cruz do Sul :[s.n.].
- ROBISON, R. K.; BATT, C. A.; PATEL ,P. D. **Encyclopédia of food microbiology**. Sam Diego: Academic Press., 2000.
- SALGADO, M.J. O emprego da amora, framboesa, mirtilo e morango na redução de risco de doenças, n. 1, 2003.**Anais**. Vacaria R/S: I Seminário de Pequenas Frutas no Brasil, 2003, p.36.
- SUTTON, J. C. Biological control of strawberry diseases: Departament of Enviromental Biology in strawberry Research. **Advances in strawberry research**, v.13, p.1-8. 1994
- SUTTON, J. C.; YU, H. Morphological development and interations of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in rasperry. **The Canadian Phytopathological Society**. 1997, v.19 (3), p. 237-336.
- STEYN, P. S. Mycotoxins, geral view, Chemistry and strutura. **Toxicology letters**, 1995- 82/83; 843- 851.
- TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHENEN, H. VOLKWEISS, S. J. **Análise Solo, Plantas e outros materiais**. Boletim técnico. Departamento de Solos, faculdade de Agronomia, UFRGS. POA. RS:2ª, n. 50, 1995
- TRONSNO, A. Biological and integrated controls of *Botrytis cinerea* on apple with *Trichoderma harzianum*, **Current Microbiology**. 1991, v.23, p. 285-289
- VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; SUTTON, J.; PERAZZOLO I.; CSERMAISKI, A. B. C. **Controle do mofo cinzento com o fungo *Gliocladium roseum* em culturas protegidas de morangueiros**. Comunicado técnico EMBRAPA-CNPUV, n 22, p. 1-8, 1997
- YOHALEM, D. S. (). Evaluation of fungal antagonist for grey mold management in early growth of pot roses. **Association of Applied Biologist**. 2003v.144, p. 9-15.
- YOHALEM, D. S.; NIELSEN, K.; GREEN, H.; JENSEN, D. F. Biocontrol agents efficiently inhibit sporulation of *B. aclada* on necrotic leaf tips but spread to adjacent living tissue is not prevented. **Microbiology Ecology**.2004,v.47.p 297-303.
- WARGOVICH, M. J.. **Red fruits s functional foods for the prevention of cancer**. EMBRAPA: Doc 167. 2006., Pelotas RS
- WELL S. H. D. *Trichoderma* as a controle agent. In: MUKERJI, K.G., GARG, K. L.. **Biocontrol of Plants Diseases**, Boca Raton: CRC Press, 1988, v.1, p. 71-82.
- ZAMBONI-PINOTTI, M. M. Seleção de antagonicos para o controle de *Botrytis cinerea*

em Framboeseiro, Amoreira e Morangueiro. 2005,
p. 57. Dissertação (Mestrado em biotecnologia)
–Universidade de Caxias do Sul- UCS, Caxias
do Sul, 2005