REAÇÃO DE CEBOLA E TOMATEIRO À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES E DE *Pyrenochaeta*
terrestris E *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

ARLETE MARCHI TAVARES DE MELO

Engenheira Agrônoma

ORIENTADOR : PROF. DR. CYRO PAULINO DA COSTA

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título
de Mestre em Agronomia - Área de
Concentração: Genética e Melhora-
mento de Plantas.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

dezembro - 1989

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Melo, Arlete Marchi Tavares de
M528r Reação de cebola e tomateiro à inoculação de fun-
gos micorrízicos vesículo-arbusculares e de Pyreno-
chaeta terrestris e Fusarium oxysporum f. sp. lyco-
persici. Piracicaba, 1989.

124p.

Diss.(Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Cebola - Micorriza - Inoculação 2. Fungo fito-
patogênico 3. Fungo para controle biológico 4. Toma-
te - Micorriza - Inoculação I. Escola Superior de A-
gricoltura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 635.25

REAÇÃO DE CEBOLA E TOMATEIRO À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES E DE *Pyrenochaeta*
terrestris e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Arlete Marchi Tavares de Melo

Aprovada em: 26/03/1990

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Cyro Paulino da Costa

ESALQ/USP

Prof. Dr. Chukichi Kurozawa

UNESP

Profª Drª Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso

ESALQ/USP

Prof. Dr. Cyro Paulino da Costa
Orientador

AGRADECIMENTOS

Às seguintes Instituições, pela oportunidade do curso e facilidades concedidas para a execução deste trabalho de dissertação:

Departamento de Genética da ESALQ/USP
 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
 Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
 Bioplanta - Tecnologia de Plantas Ltda.

Ao apoio, orientação, colaboração, incentivo e amizade de:

Prof. Dr. Cyro Paulino da Costa
 Dr. Itamar Soares de Melo
 Dr. Min Tien Lin
 Dr. Hiroshi Nagai
 Dra. Violeta Nagai
 Dra. Ingrid B. Inchausti de Barros
 Dra. Adriana Parada D. da Silveira
 Dra. Maria Angélica Pizzinatto
 Dra. Margarete Camargo
 Eng^a. Agr^a. Anete Pereira de Souza
 Eng^o Agr^o Ailton Ribeiro
 Ruth Massarente de Oliveira
 Paulo Sérgio Koch
 Alcides Martin
 João Araujo

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

A Autora

ÍNDICE

	Página
RESUMO	viii
SUMMARY	x
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Considerações gerais sobre a relação pa- tógeno - hospedeiro	04
2.1.1. <i>Pyrenochaeta terrestris</i> (HANSEN) GORENZ, WALKER & LARSON em cebola.	04
2.1.2. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Sacc.) SNYDER & HANSEN e a murcha de <i>Fusarium</i>	07
2.2. O controle biológico de doenças de plan- tas	09
2.3. Considerações gerais sobre micorrizas ...	11
2.3.1. Histórico	12
2.3.2. Classificação	13
2.4. Micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) ..	13
2.4.1. Morfologia	14
2.4.1.1. Hifa	15
2.4.1.2. Arbúsculos	15
2.4.1.3. Vesículas	16
2.4.1.4. Esporos	16
2.4.2. O processo de colonização e o as- pecto nutricional	17

2.4.3. Fatores que afetam a colonização da raiz e o desenvolvimento da planta.	19
2.4.3.1. Condições de solo	19
2.4.3.2. Variabilidade do hospedeiro	20
2.4.3.3. Variabilidade do fungo micorrízico	21
2.4.3.4. Temperatura e intensidade de luz	23
2.5. MVA como agente de biocontrole de doenças de plantas	24
2.5.1. Interação entre micorriza-hospedeiro-patógeno	24
2.5.2. Interação MVA-cebola-patógenos	30
2.5.3. Interação entre MVA-tomateiro-patógenos	33
2.5.4. Mecanismos de resistência	38
2.5.4.1. Mecanismos de resistência por alterações morfológicas	38
2.5.4.2. Mecanismos de resistência por alterações fisiológicas e bioquímicas	39

3. MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1. Local de investigação	41
3.2. Preparo do substrato	41
3.3. Cultivares hospedeiros	42
3.4. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (FMVA)	42
3.4.1. Isolados utilizados	42
3.4.2. Multiplicação	43
3.4.3. Isolamento e contagem dos esporos .	44
3.4.4. Inoculação	45
3.5. Fungos patogênicos	45
3.5.1. Obtenção e multiplicação dos isola- dos	45
3.5.2. Preparo dos inóculos	47
3.5.3. Inoculação dos patógenos	48
3.6. Avaliação das reações dos hospedeiros aos patógenos	48
3.6.1. Reação de cebola a <i>P. terrestris</i> ..	48
3.6.2. Reação de tomate a <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	50
3.7. Avaliação do efeito dos fungos micorrízi- cos	51
3.8. Experimentos	55
3.8.1. Experimento I - Eficiência de FMVA em cebola	55
3.8.2. Experimento II - Eficiência de FMVA em tomateiro	56
3.8.3. Experimento III - Reação de cebola à inoculação simultânea de FMVA e de <i>P. terrestris</i>	58

3.8.4. Experimento IV - Reação de cebola à inoculação de FMVA e de <i>P. terrestris</i>	59
3.8.5. Experimento V - Reação do tomateiro à inoculação de FMVA e de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ...	60
3.9. Procedimentos estatísticos	61
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4.1. Experimento I - Eficiência de FMVA em cebola	62
4.2. Experimento II - Eficiência de FMVA em tomateiro	67
4.3. Experimento III - Reação de cebola à inoculação simultânea de FMVA e de <i>P. terrestris</i>	75
4.4. Experimento IV - Reação de cebola à inoculação de FMVA e de <i>P. terrestris</i>	81
4.5. Experimento V - Reação do tomateiro à inoculação de FMVA e de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	91
5. CONCLUSÕES	96
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

REAÇÃO DE CEBOLA E TOMATEIRO À INOCULAÇÃO DE FUNGOS
MICORRÍZICOS VESÍCULO-ARBUSCULARES E DE *Pyrenochaeta*
terrestris E *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Autora: Arlete Marchi Tavares de Melo
Orientador: Prof. Dr. Cyro P. da Costa

RESUMO

Nos estudos sobre micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) tem-se dado ênfase para o aspecto nutricional, resultante da interação com espécies vegetais. No entanto, a utilização desses simbiossiontes tem sido recomendada também para o controle de doenças de plantas, principalmente aquelas causadas por patógenos do solo.

Na primeira etapa desse trabalho o objetivo foi o de pesquisar as relações de eficiência e de especificidade entre fungos micorrízicos (FMVA) e plantas de cebola e de tomate. Na segunda etapa foram estudadas as interações de três espécies de FMVA com *Pyrenochaeta terrestris* em cebola e com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomate.

Plantas de cebola inoculadas com *Glomus leptotichum* e *Acaulospora scrobiculata* mostraram Altura das Plantas (AP), Matéria Seca da Parte Aérea (MA) e Matéria Seca das Raízes (MR), respectivamente, 3, 10 e 6 vezes maiores que o da testemunha sem micorriza.

G. leptotichum, *A. scrobiculata* e *Gigaspora heterogama* não tiveram efeito sobre o desenvolvimento de plantas de tomate.

A inoculação simultânea de *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* com *P. terrestris* em plantas de cebola não diminuiu a severidade de ataque da raiz rosada.

Em plantas de cebola inoculadas previamente com FMVA não houve interação em relação a *P. terrestris*. Provavelmente, o período entre a inoculação e a avaliação não foi suficiente para a manifestação dos sintomas.

Também não ocorreu interação entre FMVA previamente inoculados, plantas de tomate e *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Não foram constatadas relações de especificidade entre os três isolados de FMVA e hospedeiros estudados.

No estudo das interações entre FMVA-hospedeiro-patógeno, as pesquisas devem ser conduzidas até o estágio de produção para que resultados mais conclusivos possam ser obtidos.

REACTION OF ONION AND TOMATO TO INOCULATION WITH
VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND WITH
Pyrenochaeta terrestris AND *Fusarium oxysporum*
f. sp. *lycopersici*.

Author: Arlete Marchi Tavares de Melo

Adviser: Prof. Dr. Cyro P. da Costa

SUMMARY

Research on vesicular-arbuscular mycorrhizas has usually focused the nutritional aspect that results from the interaction of them with higher plants. However, VAM has been also applied to control soil borne plant pathogens.

In the first step of the present investigation, the aim was studying the efficiency and specificity relationships of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (VAMF) with onion and tomato plants. In the second step, the interactions of three VAMF species with *P. terrestris* in onion and with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato, was studied.

Onion plants growth inoculated with *Glomus leptotichum* and *Acaulospora scrobiculata* were evaluated through Plants Height, Shoot Dry Weight and Root Dry Weight. The results were, respectively, three, ten, and sixfold larger than non-mycorrhizal plants.

G. leptotichum, *A. scrobiculata* and *Gigaspora heterogama* did not affect tomato plant growth.

Simultaneously inoculation of *G. leptotichum* and *A. scrobiculata* with *P. terrestris* in onion plants did not reduced the severity of pink-root infection.

No interaction was observed between pre-inoculated mycorrhizal onion plants and *P. terrestris*. Probably, the time from pathogen inoculation to plant evaluation was not enough to the symptoms of pink-root show up.

In addition, no interaction was noted between pre-inoculated mycorrhizal tomato plants and *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Specificity relationships between VAMF and hosts was not detected.

Research on VAMF-host-pathogen interaction should be conducted until production stage in order to obtain more definite results.

1. INTRODUÇÃO

A luta contra fungos causadores de podridão em raízes de espécies vegetais sempre foi muito difícil. Esses microrganismos vivem no solo e produzem estruturas de resistência que permitem sua sobrevivência por longos períodos de tempo mesmo sob condições adversas. As medidas usualmente recomendadas para controlar tais patógenos nem sempre têm sido eficientes, mesmo o controle químico. Além disso, quando surgem sintomas na parte aérea, muitas vezes é tarde demais para a aplicação de defensivos.

No Brasil, a tomaticultura é a atividade agrícola que mais intensivamente faz uso de fungicidas devido à incidência e à gravidade dos ataques de fungos patogênicos. Dentre as doenças fúngicas, a murcha de *Fusarium* causa elevados prejuízos nos cultivares suscetíveis, devido à colonização vascular pelo fungo e a inviabilidade econômica através de controle químico.

Pyrenochaeta terrestris (Hansen) Gorenz, Walker & Larson é o agente causal de raiz rosada, doença já constatada em várias regiões produtoras de cebola no Brasil. A doença está pouco estudada em nosso meio e a exten-

são dos prejuízos que causa pode estar sendo subestimada. A zona produtora situada no semi-árido nordestino é uma das regiões que se mostra potencialmente importante para a sua disseminação. No Estado de São Paulo a raiz rosada poderá tornar-se limitante caso a cebola passe a ser cultivada também no verão (KIMATI, 1980; NODA, 1981).

Para o controle da murcha de *Fusarium* e de raiz rosada tem sido postulada a obtenção de cultivares geneticamente resistentes como a melhor forma de evitar e/ou reduzir os danos na cultura. As pesquisas têm mostrado, contudo, algumas limitações na luta genética contra patógenos do solo: nível de resistência parcial; superação da resistência pelo aparecimento de novas raças fisiológicas, como é o caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen e *Verticillium dahliae* em tomateiro.

O controle biológico de doenças de plantas é outra medida possível de ser aplicada aos microrganismos causadores de podridão de raízes. Entre as muitas maneiras pelas quais ele pode ser exercido destaca-se o uso de fungos micorrízicos. Dentre estes, as micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) possuem um grande potencial como agentes de biocontrole de patógenos do solo.

O trabalho teve como objetivos: pesquisar as relações de eficiência e de especificidade entre MVA e plantas de cebola e de tomate; e, principalmente, estudar a interação de endomicorrizas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, em tomate, e com *Pyrenochaeta terrestris* em

cebola, em busca de mais uma forma alternativa de controle desses patógenos e que possa ser integrada aos métodos já utilizados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações gerais sobre a relação patógeno-hospedeiro

2.1.1. *Pyrenochaeta terrestris* em cebola

Raiz rosada tem ocorrido extensivamente em Minas Gerais sendo, inclusive, apontada como um dos fatores que contribuiu para o declínio da cebolicultura nesse Estado. Já foi constatada, também, nas áreas produtoras de cebola dos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (KIMATI, 1980). Também já se faz presente na zona ceboleira do submédio São Francisco, no Nordeste brasileiro. Recentemente, foi detectada na região de Ituporanga, em Santa Catarina, principal centro produtor de cebola do país, na atualidade¹. Nos Estados Unidos é considerada a doença mais limitante da cultura da cebola especialmente nas zonas de produção do Texas e Califórnia. Por esse motivo, vem sendo estudada sistematicamente des-

¹MELO, P.C.T. de (Asgrow do Brasil Sementes Ltda., Campinas)

Comunicação pessoal, 1989.

de 1915, quando foi observada pela primeira vez, no Texas, e recebeu a denominação de "raiz rosada" (TAUBENHAUS, 1917). Naquele país têm sido registradas perdas significantes na produção, bem como o abandono temporário da cultura nas áreas densamente infestadas pelo patógeno (KIMATI, 1980).

A doença pode atingir a planta em todos os estádios de desenvolvimento, porém é mais facilmente observada em plantas próximas à maturidade. As raízes afetadas tornam-se, no início, amareladas, em seguida adquirem uma coloração rosada característica. Na seqüência, evoluem sucessivamente para as cores vermelha, púrpura, parda e preta. Essa evolução é acompanhada por enrugamento dos tecidos e morte das raízes. A localização do patógeno é restrita ao sistema radicular mas afeta toda a planta, resultando em bulbos menores. Na parte aérea os sintomas são estiolamento, flacidez, murcha e morte a partir da ponta da folha ("dieback"), que não são específicos de raiz rosada podendo ocorrer também em outras doenças ou sob condições ambientais desfavoráveis à planta.

Três fitotoxinas, conhecidas como pirenocinas A, B e C foram isoladas de culturas de *P. terrestris*. Verificou-se que a pirenocina A inibe o alongamento da plântula e é tóxica ao protoplasto de cebola. As pirenocinas B e C parecem não ter efeito ou este ainda não pôde ser detectado (TAUBENHAUS, 1919; HANSEN, 1926, 1929; KREUTZER, 1939, 1941; KIMATI, 1980; SPARACE *et alii*, 1984; SPARACE & MUDD, 1985).

O fungo causador de raiz rosada é habitante do solo, com amplo espectro de hospedeiros. Foi classificado pela primeira vez por HANSEN (1929) como sendo *Phoma terrestris*. Posteriormente, GORENZ *et alii* (1944) demonstraram tratar-se, na realidade, de *Pyrenochaeta terrestris*. A temperatura ótima para o desenvolvimento da doença está entre 24 e 28°C. Alta umidade do solo predispõe o hospedeiro ao patógeno (HANSEN, 1929; DAVIS & HENDERSON, 1937; GORENZ *et alii*, 1948, 1949; KIMATI, 1980). No Brasil, nas regiões onde foi relatada a ocorrência de *P. terrestris*, o cultivo da cebola é realizado no inverno e, por isso, a doença tem sido considerada como sendo de menor importância. Entretanto, raiz rosada poderá tornar-se um problema sério no Nordeste onde as temperaturas se mantêm altas durante o ano todo e também em outras regiões caso se introduza o cultivo de verão.

Por se tratar de um parasita facultativo da cebola e de um grande número de espécies, o fungo é capaz de sobreviver saprofiticamente no solo no intervalo entre dois períodos de cultivo do hospedeiro. A disseminação do patógeno no campo se dá através de mudas, bulbos/bulbinhos e, uma vez instalado, permanece indefinidamente como habitante do solo (WALKER, 1952). Essa característica torna o controle químico economicamente inviável uma vez que, no ciclo de cultivo seguinte, o solo é reinfestado pelo patógeno. Atualmente, empregam-se cultivares geneticamente resistentes como forma de controlar o patógeno. No entanto, no Brasil, esses cultivares têm sido usados em escala limitada.

2.1.2. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e a
murcha de *Fusarium*.

A murcha de *Fusarium* tem sido estudada desde o início deste século. É uma doença cosmopolita, ocorrendo em todas as regiões onde o tomateiro é cultivado. No Brasil, foi detectada pela primeira vez por volta de 1938, em Pesqueira, PE. Atualmente está disseminada por quase todos os Estados. Em áreas plantadas há muito tempo com cultivares suscetíveis é comum a destruição de todas as plantas ou a redução drástica do período de colheita devido à morte prematura das plantas. Nessas condições, a doença foi uma das responsáveis pelo contínuo deslocamento das áreas de cultivo (TOKESHI & CARVALHO, 1980).

No campo, a doença pode manifestar-se em qualquer fase do desenvolvimento sendo, no entanto, comum em plantas adultas no início da colheita. Surge um amarelimento nas folhas mais velhas que progride rapidamente para as mais jovens. As folhas adquirem um tom amarelo vivo e mantêm-se túrgidas, no começo do ataque. Frequentemente, tornam-se amarelas apenas num dos lados da planta, ou, apenas os folíolos de um dos lados da folha amarelecem. Segue-se uma murcha generalizada e as folhas caem. Cortando-se a haste longitudinalmente nota-se uma coloração marrom-avermelhada muito típica, na região dos vasos lenhosos. No geral, a medula da planta não apresenta anormalidade. Ocorre queda prematura de frutos. Em condições de umidade e tempe-

raturas altas o patógeno pode causar "damping-off" em plântulas (TOKESHI & CARVALHO, 1980).

O fungo responsável pela fusariose vascular em tomate é *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Ele coloniza o solo em profundidade e se conserva assim sobre os restos vegetais na forma de micélio e de clamidosporos, que são esporos altamente resistentes. Esses órgãos são disseminados por torrões de terra, poeira do solo, restos de cultura, água, vento, implementos agrícolas, insetos e mudas. Às vezes, as sementes podem carregar micélio dormente, no seu interior, ou esporos aderentes à sua superfície. Os clamidosporos apresentam grande longevidade e, juntamente com os conídios, germinam ante o estímulo de exsudatos de raízes e penetram na planta através dos pêlos absorventes e/ou de ferimentos. A doença é favorecida por altas temperaturas, estando o ótimo a 28°C. Solos com pouca água, arenosos e ácidos e culturas carentes de N, P e Ca, em presença de dias curtos e com pouca luminosidade tendem a intensificar a manifestação dos sintomas (TOKESHI & CARVALHO, 1980; LATERROT *et alii*, 1988).

A maioria das medidas de controle usualmente recomendadas tem efeito limitado. Entre estas incluem-se: a) rotação de cultura; b) tratamento de sementes; c) calagem do solo; d) eliminação de plantas doentes; e) uso de cultivares resistentes, que é a mais eficiente (TOKESHI, 1966; TOKESHI & CARVALHO, 1980).

2.2. O controle biológico de doenças de plantas

O melhor método de controle de doenças de plantas é através do uso de cultivares resistentes. Entretanto, alguns entraves têm sido associados a esse tipo de controle: aparecimento de raças fisiológicas que superam a resistência existente, levando novamente à suscetibilidade; resistência parcial, devido à dominância incompleta dos genes; nesse caso, as plantas apresentam uma certa suscetibilidade e se o nível de incidência da doença for alto, a resistência parcial torna-se praticamente ineficaz (MELO, 1984). Por isso, quando esse modo de controle de fitopatógenos se mostra ausente ou insatisfatório, outras formas são necessárias.

O controle biológico de doenças de plantas é um método que ganha importância com a evolução dos conhecimentos fitopatológicos e deverá ter larga aplicação no futuro. Os trabalhos de WEINDLING *et alii* (1950); WOOD & TVEIT (1955); GARRET (1965); CARDOSO (1968); TOKESHI (1972); MITCHELL (1973); PAPAIVIZAS (1973); WILHELM (1973); COOK & BAKER (1983); COOK (1985) e muitos outros, têm ressaltado a sua importância.

O controle biológico pode ser definido como o uso de qualquer organismo para controlar um patógeno (COOK & BAKER, 1983). Mais recentemente, entretanto, COOK (1985) propôs que outros métodos também devem ser considerados como formas de controle biológico. Entre estes estão resistência genética, rotação de cultura e erradicação de plantas doentes.

Nos moldes tradicionais, o controle biológico

pode ser interpretado como o encorajamento de microrganismos benéficos existentes e/ou introduzidos a um determinado lugar para inibir o desenvolvimento de um ou mais patógenos. Esses microrganismos podem agir como reguladores ou mesmo exterminadores de outros, atuando em antagonismo ou competição.

O uso de microrganismos pouco ou não patogênicos contra aqueles patogênicos vem sendo tentado há várias décadas com o objetivo de controlar doenças de plantas. ANUAR (1949) relatou a proteção de *Trichoderma lignorum* e *Penicillium* sp. contra *Helminthosporium sativum* em plantas de cevada e demonstrou ainda reações antagônicas entre esses fungos *in vitro*. DUTTA (1981) isolou vários fungos da rizosfera do tomateiro; dentre estes *Trichoderma viridae* e *Penicillium chrysogenum* mostraram-se os mais antagônicos a *Verticillium albo-atrum*, causador da murcha de *Verticillium*. A murcha de *Fusarium*, envolvendo o controle biológico, tem sido tema de vários estudos: A diminuição da murcha em tomate foi devida à ação de substância antibiótica sistêmica produzida por *Cephalosporium* (SMITH, 1957). Esse mesmo fungo teve sua atividade antagônica aumentada após passagens sucessivas dos respectivos agentes patogênicos por plantas de tomate e algodão (ALLISON & PHYLLIPS, 1963). Rodebaugh, citado por CARDOSO (1968), estudou o aspecto bioquímico da ação de *Cephalosporium* sobre *Fusarium* em tomateiro; ele relatou que, em plantas pré-inoculadas com *Cephalosporium*, a atividade da

metil-esterase pctica aumentava vagarosamente aps a inoculao do patgeno para depois diminuir rapidamente. Quando as plantas foram inoculadas s com o *Fusarium*, o aumento da atividade dessa enzima foi rpido.

MARTINEZ & GARCIA (1984) verificaram que a aplicao de uma soluo contendo antibiticos produzidos por *Trichoderma viridae* reduziu de 40 a 60% o nmero de sementes de tomate infectadas artificialmente com *F. oxysporum* e no afetou a germinao das mesmas. COUTEAUDIER *et alii* (1985) obtiveram isolados no patognicos de *F. oxysporum* e *F. solani* e inocularam previamente a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* em solo estril. A incidncia de murcha foi significativamente reduzida como resultado da competio entre os fungos.

2.3. Consideraes gerais sobre micorrizas

A agricultura tem sofrido grandes mudanas durante as ltimas dcadas devido ao desenvolvimento, custo e uso de fertilizantes, pesticidas, mecanizao, produo em vasos, melhoramento, mtodos de propagao por cultura de tecido, eliminao de patgenos etc. Devido preocupao com o elevado custo da energia usada na produo de insumos e, principalmente, com a qualidade do meio ambiente, a utilizao de micorrizas aumentou muito nos ltimos anos e as pesquisas tm mostrado o papel benfico dos fungos micorr-

zicos na vida de muitas plantas de interesse na horticultura (MARONEK *et alii*, 1981; LOPES *et alii*, 1983; MENGE, 1983).

O termo "micorriza" refere-se a uma relação mutualística e simbiótica formada entre fungos (do grego *mykes*) e raízes vivas (do grego *rhiza*) de plantas superiores. Essas associações são encontradas em quase todas as espécies vegetais e têm sido observadas na maioria das hortaliças.

2.3.1. Histórico

Frank foi o primeiro pesquisador a descrever a associação entre certos fungos e raízes de plantas, em 1885, denominando-a de "micorriza". Apesar de conhecidas há tanto tempo, as micorrizas passaram a ter maior importância nesse século quando uma pesquisa mais acurada mostrou o valor dessa associação com raízes de plantas. Isso ocorreu devido à incapacidade que esses fungos apresentam de crescer em meios de cultura artificiais. O desenvolvimento de técnicas de cultivo em vasos e de peneiramento e decantação para obtenção dos esporos, permitiu o estudo dessa interação numa escala mais ampla. A moderna pesquisa micorrízica começou na década de 50, intensificando-se a partir de 1960. Uma investigação mais efetiva, no entanto, tem sido conduzida desde a década de 70. Atualmente, os trabalhos estão se voltando mais para as bases fisiológicas do sistema micorrízico em virtude das diferentes respostas obtidas com a inoculação dos

fungos (GERDEMANN & NICOLSON, 1963; ZAK, 1964; LOPES *et alii*, 1983; MILLER *et alii*, 1986).

2.3.2. Classificação

As micorrizas foram classificadas originariamente, em três grupos: ecto, endo e ectoendomycorrizas, com base nos tipos de estruturas formados no sistema radicular. Num classificação mais recente Harley & Smith,² citados por MILLER *et alii* (1986), além de acentuarem essas características, levaram em conta também os hospedeiros e endófitos envolvidos. Sete tipos de micorrizas foram descritos: vesículo-arbuscular, ectomicorriza, ectoendomycorriza, arbutóide, ericóide, monotropóide e orquidóide. Cada micorriza forma um tipo ou combinação de tipos diferentes de estruturas. As micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) e as ectomicorrizas formam os dois grupos mais importantes.

2.4. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (FMVA)

Os FMVA são simbioses obrigatórios e estão amplamente distribuídos na natureza interagindo com a grande maioria das espécies vegetais. Os primeiros estudos sobre MVA em hortaliças envolveram os aspectos nutricionais e de desenvolvimento de plantas inoculadas e não inoculadas. Grande parte desses estudos foi feita com cebola pois já se conhecia a

² HARLEY, J.L. & SMITH, S.E. Mycorrhizal symbiosis. Academic, New York, 1983.

dependência dessa espécie aos fungos micorrízicos para seu crescimento e desenvolvimento normais. Embora em menor número, o tomateiro também foi utilizado com essa finalidade. GRAY & GERDEMANN (1969), HAYMAN & MOSSE (1971), MOSSE (1973), RHODES & GERDEMANN (1975), SANNI (1976), RIAZI-HAMADANI (1977), GAUNT (1978), HIRREL & GERDEMANN (1980), MCGRAW & SCHENCK (1980), OWUSU-BENNOAH & WILD (1980), FAIRWEATHER & PARBERRY (1982), NELSEN & SAFIR (1982a), POWELL *et alii* (1982), entre vários outros, fizeram essas pesquisas.

Os FMVA classificam-se, atualmente, na subdivisão Zigomicotina, ordem Endogonales e com uma única família - Endogonaceae. Os gêneros são: *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Sclerocystis* e *Entrophospora* e já são distingüidas mais de 140 espécies. Dois tipos de esporos são conhecidos: clamidosporos e zigosporos. O primeiro é encontrado nas espécies dos gêneros *Glomus* e *Sclerocystis* enquanto que o segundo tipo ocorre nos demais gêneros (SIQUEIRA, 1987).

2.4.1. Morfologia

Além das hifas e esporos, os fungos MVA produzem estruturas características conhecidas como arbúsculos e vesículas.

2.4.1.1. Hifa

As hifas crescem tanto externa quanto internamente às raízes. A partir do solo, o micélio penetra na raiz através das células epidérmicas ou dos pêlos radiculares e a colonização pode ser inter e/ou intracelular dependendo da planta hospedeira e abrange apenas a região cortical; não ocorre penetração nos tecidos meristemáticos e vasculares. O conjunto de hifas externas estende-se no solo a mais de um centímetro da raiz podendo alcançar até oito centímetros de distância. As hifas são eficientes órgãos de absorção devido à elevada proporção superfície por volume. Sua função é a de mediar a transferência de nutrientes minerais e outras substâncias do solo para a planta hospedeira (GERDEMANN, 1968; RHODES & GERDEMANN, 1975; OCAMPO, 1980a; MILLER *et alii*, 1986).

2.4.1.2. Arbúsculos

Formam-se através de uma hifa intercelular que penetra em uma célula cortical e que, uma vez dentro, produz uma dilatação chamada tronco arbuscular. A partir dele surge uma série de ramificações dicotômicas que formará o arbúsculo o qual, quando maduro, tem o aspecto de uma sebe. Possui glóbulos lipídicos e grânulos de polifosfato. A sua formação inicia-se logo após a colonização das raízes e duram de quatro dias a três semanas, apenas (MOSSE, 1963; COX & SANDERS,

1974; BOWEN *et alii*, 1975; RHODES & GERDEMANN, 1975; TINKER, 1975; COX & TINKER, 1976; OCAMPO, 1980a; MILLER *et alii*, 1986).

2.4.1.3. Vesículas

São glóbulos ovais ou esféricos resultantes de dilatações na extremidade das hifas ou de formação intercalar. Podem ser intra ou intercelulares dependendo da espécie hospedeira e de suas condições nutricionais. As vesículas contêm gotas de lipídeos e muitos grânulos de polifosfato e funcionam como órgãos de reserva do fungo. Geralmente, são produzidas depois dos arbúsculos e tornam-se mais numerosas com a maturidade do hospedeiro (MOSSE, 1973; COX & SANDERS, 1974; OCAMPO, 1980a; MILLER *et alii*, 1986).

2.4.1.4. Esporos

Os esporos são os órgãos de repouso dos FMVA. Surgem de maneira unitária no micélio ou agregados em estruturas chamadas esporocarpos. Diferem entre si quanto a cor, tamanho, conteúdo citoplasmático, estrutura da parede e da hifa de sustentação e presença ou ausência de esporocarpos (MOSSE, 1981).

2.4.2. O processo de colonização e o aspecto nutricional

A germinação dos esporos é influenciada pela planta através do suprimento de nutrientes. O alongamento do micélio é feito por hifas infectivas, as quais penetrarão na raiz.

As MVA resultam da colonização de raízes finas e de pêlos absorventes por fungos micorrízicos. De um modo geral, plantas com raízes grossas e pêlos radiculares curtos ou em pequena quantidade, como cebola e citros, tendem a ser mais dependentes de micorrização do que aquelas com sistema radicular muito ramificado e pêlos em abundância, como as crucíferas. Pelo fato de invadir apenas o córtex primário, a infecção VA envolve estruturas temporárias com vida funcional limitada e, por isso, é um processo equilibrado. A esse respeito elas diferem das infecções patogênicas por outros fungos, que causam lesões, distorção e descoloração dos tecidos invadidos e, freqüentemente, espalham-se aos tecidos permanentes (HAYMAN, s.d.; BAYLIS, 1975; MOSSE, 1981; Harley & Smith³, citados por MILLER *et alii*, 1986).

O grande potencial das micorrizas está relacionado principalmente com a nutrição. Elas aumentam a capacidade da planta em captar e translocar o fósforo (P) assimilável do solo. As hifas do fungo que se estendem den-

³HARLEY, J.L. & SMITH, S.E. Mycorrhizal symbiosis. Academic, New York, 1983.

tro do solo, desde o ponto de infecção na raiz, são equivalentes a uma massa extra de pêlos absorventes. Elas constituem-se numa rede adicional de absorção, localizada estrategicamente. A quantidade de micélio externo foi estimada em 80 cm/cm de raiz em cebola, 1% do peso total de raízes de trevo subterrâneo e 5% do peso de raízes de maçã. Esse micélio pode estender-se a vários centímetros além da superfície radicular funcionando como extensão dos pêlos absorventes. Ultrapassam a zona de esgotamento de P e outros nutrientes, os quais são absorvidos e canalizados para o córtex radicular. A eficiência de absorção de uma raiz hospedeira pode ter um aumento de até 10 vezes enquanto que as hifas podem aumentar a eficiência de absorção de elementos nutricionais em até 60 vezes. Em solo deficiente de P, em condições de campo, plantas micorrizadas de cebola forneceram peso de matéria seca 14 vezes maior que aquelas sem micorriza. Se o P assimilável não for retirado com rapidez, ele é adsorvido ao colóides do solo, tornando-se indisponível. Raízes micorrizadas também retiram o fosfato presente na solução do solo em baixas concentrações, o que é impossível para aquelas sem micorriza. Parece muito improvável que os FMVA utilizem o P insolúvel do solo. Por isso os fungos micorrízicos são chamados de fertilizantes bióticos. Não são, porém, fabricantes de fertilizantes, apenas ajudam a absorver melhor aqueles disponíveis. Como simbiotes obrigatórios os fungos MVA obtêm nutrientes orgânicos essen-

ciais de seus hospedeiros e as plantas assim colonizadas exibem maior taxa fotossintética. Por outro lado, em condições desfavoráveis, o fungo pode funcionar como um dreno de carboidrato do hospedeiro, tornando a relação parasítica e reduzindo o desenvolvimento da planta hospedeira (HAYMAN, s.d.; BIELESKI, 1973; MOSSE, 1973; SANDERS & TINKER, 1973; BEVEGE *et alii*, 1975; OWUSU-BENNOAH & MOSSE, 1979; ALLEN *et alii*, 1981; MOSSE, 1981).

2.4.3. Fatores que afetam a colonização da raiz e o desenvolvimento da planta

2.4.3.1. Condições do solo

Entre os vários fatores que interferem no estabelecimento da simbiose micorrízica, o solo desempenha o papel mais importante. Variações nos níveis de pH, umidade, salinidade e, principalmente, de fertilidade, afetam de forma drástica o processo de infecção. Devido à sua importância sobre a eficiência micorrízica, o nível de fertilidade do solo tem sido intensivamente estudado. DAFT & NICOLSON (1969), HAYMAN (1970), KHAN (1972), MOSSE (1973, 1981), SANDERS (1975), AZCON *et alii* (1978), NELSEN *et alii* (1981), BUWALDA *et alii* (1982), entre vários outros, tratam do assunto. O mutualismo está baseado, essencialmente, no intercâmbio de fosfato e carbono entre planta e fungos endófitos. Em solos com

altos teores de P a colonização micorrízica é mínima ou nula. Uma hipótese sugere que a enzima fosfatase micorriza-específica (MSP) é a responsável pela colonização micorrízica e sua ação é inibida por íons ortofosfato em solos com elevada concentração de P. Nessas mesmas condições, uma outra hipótese, explica a inibição: a permeabilidade da membrana celular diminui devido ao aumento de conteúdo de fosfolipídeos; com isso ocorre uma menor liberação de açúcares e aminoácidos da raiz para a solução do solo gerando o desestímulo à colonização (GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1978; RATNAYAKE *et alii*, 1978; FITTER, 1985).

2.4.3.2. Variabilidade do hospedeiro

A resposta à colonização pelo fungo e ao desenvolvimento varia consideravelmente de hospedeiro para hospedeiro indicando que a planta desempenha um papel importante na simbiose micorrízica. Essa variabilidade pode ser inter ou intraespecífica. Algumas famílias raramente formam micorriza e entre as hortaliças estão as Crucíferas e Chenopodiáceas. Den-

tro da variabilidade interespecífica, a cebola é a espécie que tem respondido com maior intensidade à inoculação com fungos micorrízicos. Evidências recentes indicam também a existência de variabilidade intraespecífica; em algodão observou-se variação entre cultivares quando inoculados com *Glomus fasciculatus*. Por outro lado, não houve diferença na resposta de variedades distintas de soja e de Festuca à infecção micorrízica (MOSSE, 1975; MOLINA *et alii*, 1978; POWELL *et alii*, 1982; OLLIVIER *et alii*, 1983; RAJAPAKSE & MILLER, 1984, 1985).

2.4.3.3. Variabilidade do fungo micorrízico

As pesquisas têm indicado unanimemente que a inoculação de plantas com espécies de fungos micorrízicos cuidadosamente selecionados mostra-se superior do que o uso de endófitos nativos. Esses resultados foram obtidos com diversas hortaliças como cebola, alface, alho-poró e aspargo, bem como com milho e caupi (MOSSE & HAYMAN, 1971; KHAN, 1972; MOSSE, 1977; OWUSU-BENNOAH & MOSSE, 1979; OWUSU-BENNOAH & WILD, 1980; ISLAM & AYANABA, 1981; PLENCHETTE *et alii*, 1982; POWELL *et alii*, 1982; HUSSEY *et alii*, 1984). Uma maior taxa de absorção de nutrientes e conseqüente estímulo ao desenvolvimento da planta devem resultar do uso de espécies selecionadas de fungos micorrízicos, na maioria dos casos. Por outro lado, os re-

sultados podem variar quando se utilizam isolados selecionados de diferentes endófitos. Meloh⁴, citado por OCAMPO(1980b), observou tanto aumento como diminuição no crescimento de plantas de milho e aveia quando utilizou dois tipos de isolados. DAFT & NICOLSON (1966), por sua vez, não encontraram muita diferença nos efeitos de três tipos de esporos sobre milho, tomate e fumo.

Muitos mecanismos fisiológicos, cada um governado por genes específicos, são responsáveis pelas interações bem sucedidas entre fungos e raízes de plantas. Diferenças na composição genética das plantas hospedeiras e dos vários fungos endófitos envolvidos são um dos componentes da variabilidade que se observa no desenvolvimento das plantas. Hospedeiros e fungos micorrízicos com genes sinérgicos podem resultar em um maior estímulo ao crescimento vegetal. Não há evidências que sustentem a existência de uma relação de especificidade bem definida entre hospedeiro e fungos micorrízicos. Entretanto, o genótipo de ambos tem influência sobre o grau de colonização das raízes e o desenvolvimento da planta. No sistema simbiótico o que se observa normalmente é a presença de uma preferência ao invés de uma especificidade pelo hospedeiro (MILLER *et alii*, 1986).

⁴MELOH, K.A. Untersuchungen zur biologie der endotrophen mycorrhiza bei *Zea mays* L. und *Avena sativa* L. Arch. Mikrobiol., 46: 369-381, 1963.

2.4.3.4. Temperatura e intensidade de luz

Existe uma diversidade considerável no grau de tolerância de cada fungo à variação da temperatura. Para *Gigaspora corralloidea* e *G. heterogama*, a temperatura ótima para germinação dos esporos e crescimento do fungo foi 30°C, enquanto que para *G. calospora* e *Glomus mosseae* foram 26°C e 20°C, respectivamente (SANNI, 1976). Em geral, há um aumento na porcentagem de colonização por volta dos 30°C (DEHNE & SCHONBECK, 1979).

A influência da intensidade da luz no desenvolvimento micorrízico tem gerado resultados conflitantes. Alguns autores (HAYMAN, 1974; DAFT & EL GIAHMI, 1978) observaram maior e menor desenvolvimento dos fungos em intensidades luminosas altas e sob sombreamento, respectivamente, em diferentes espécies de plantas e endófitos. FURLAN & FORTIN (1977) verificaram que, em cebola, a colonização por *G. calospora* foi mais rápida e extensiva sob baixa luminosidade. Por sua vez, GUNZE & HENNESSEY (1980) encontraram maior número de arbúsculos em raízes de plantas de caupi sombreadas enquanto que o número de vesículas diminuiu.

2.5. FMVA como agentes de biocontrole de doenças de plantas

2.5.1. Interação entre fungo micorrízico-hospedeiro - patógeno

Entre as muitas formas pelas quais o controle biológico pode ser exercido está o uso de fungos micorrízicos. Entretanto, as interações entre FMVA e doenças de plantas têm recebido pouca consideração do ponto de vista experimental. Como a maioria dos sistemas de controle biológico, os resultados têm sido ou inconsistentes ou altamente específicos ou ambos. Além disso, a interpretação dos resultados desse tipo de interação não é tão fácil como aquela relacionada com os efeitos nutricionais. A estabilidade da expressão desse potencial natural está subordinada a vários fatores: natureza do hospedeiro, do fungo micorrízico e dos patógenos envolvidos, bem como das condições ambientais tanto acima como no interior do solo (CHOU & SCHMITTHENNER, 1974; SCHONBECK & DEHNE, 1977; MARONEK *et alii*, 1981; MOSSE, 1981; PERRIN, 1985; MILLER *et alii*, 1986).

O primeiro trabalho relatando a influência de FMVA sobre um patógeno de planta, especificamente, foi feito por Safir em 1968, embora esse tipo de associação já tivesse sido observado antes por Zak em ectomicorrizas.

Atualmente, o estudo das interações entre micorrizas e doenças de plantas está centralizado principalmente nos Estados Unidos e na Alemanha. As pesquisas têm se con-

centrado sobre patógenos do solo pelo fato de os FMVA se estabelecerem nas raízes das plantas. A maior parte dos relatos encontrados na literatura revela que as micorrizas induzem a uma diminuição na severidade das doenças. Em vários casos, entretanto, a incidência patogênica aumentou e, em alguns outros, houve ausência de interação (ZAK, 1964; SAFIR, 1968; SCHENCK & ZAMBOLIM, 1978a; SCHENCK, 1981; DEHNE, 1982; BAGYARAJ, 1984; ZAMBOLIM, 1984).

A maior parte das pesquisas envolve a ação dos MVA sobre fungos fitopatogênicos. Raízes de citros pré-colonizadas por *Gigaspora margarita* e *Glomus macrocarpum* foram menos atacadas por *Phytophthora parasitica* e as plantas tiveram maior peso de raiz e maior diâmetro do caule do que aquelas não micorrizadas. Em morango, o enfezamento causado por *Cylindrocarpon destructans* foi menor em raízes inoculadas com *Glomus fasciculatum*; houve redução na infecção radicular pelo patógeno. Plantas de algodão inoculadas com *Glomus mosseae* e *Thielaviopsis basicola* mostraram um maior peso da parte aérea naquelas micorrizadas, diferenças não significativas entre os pesos das raízes de plantas micorrizadas e não micorrizadas e maior tolerância à infecção pelo patógeno por plantas micorrizadas. Uma produção dez vezes menor de clamidosporos de *T. basicola* foi obtida em raízes de fumo inoculadas com *G. mosseae*; extratos das raízes micorrizadas inibiram a esporulação em 80-100% em meio de agar com extrato de malte. Num

outro experimento, um menor número de clamidosporos de *T. basioola* foi observado em raízes de fumo e alfafa contendo fungos micorrízicos; esse resultado foi atribuído ao alto nível de aminoácidos livres encontrado nas raízes. A presença de *G. mosseae* em raízes de soja reduziu o número de plantas mortas por *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, raças 1 e 3; observou-se a colonização micorrízica 21 dias após a inoculação e o efeito sobre o patógeno em 35 dias. Plântulas de soja com três semanas de idade inoculadas com *Glomus caledonius* e com *P. megasperma* var. *sojae*, raça 1, tiveram o dobro do peso das raízes não micorrizadas. Num outra pesquisa a mesma espécie hospedeira foi inoculada simultaneamente com *G. mosseae* e com os patógenos *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium solani*; o crescimento foi superior ou semelhante ao da testemunha; nenhum efeito direto de *G. mosseae* sobre os fitopatógenos foi encontrado e concluiu-se que as plantas tornaram-se tolerantes aos patógenos ao crescerem na presença do simbiote (BALTRUSCHAT & SCHONBECK, 1972, 1975; CHOU & SCHMITTHENNER, 1974; PAGET, 1975; SCHONBECK & DEHNE,

1977; Schenck *et alii*⁵, Woodhead *et alii*⁶, citados por SCHENCK & KELLAM, 1978; ZAMBOLIM & SCHENCK, 1981).

No primeiro relato de aumento da incidência da doença, em 1972, plantas de soja foram inoculadas com *G. macrocarpus* var. *geosporus* e com *P. megasperma* var. *sojae*; 90% das plantas micorrizadas mostraram sintomas de descoloração interna no caule, enquanto que apenas 20% daquelas não micorrizadas apresentaram tais sintomas. Num outro estudo observou-se um ataque maior de murcha de *Verticillium* em plantas contendo *G. fasciculatum* do que naquelas sem o fungo micorrízico (ROSS, 1972; DAVIS *et alii*, 1979).

Vários casos de ausência de interação entre FMVA e patógenos já foram relatados. Nenhuma proteção contra *P. parasitica* foi observada em citros, cujas raízes foram previamente colonizadas por *G. fasciculatus*; as plantas contendo somente o fungo micorrízico tiveram um peso de matéria

⁵ SCHENCK, N.C.; RIDINGS, W.H. ; CORNELL, J.A. Interaction of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, and *Phytophthora parasitica* on two citrus stocks. In: NORTH AM. CONFER. ON MYCORRHIZAE, 3., Athens, 1977. Abstract. Inst. for Mycorrhizal Res. Dev., 1977. 9p.

⁶ WOODHEAD, S. H.; GERDEMANN, J.W.; PAXTON, J.D. Mycorrhizal infection of soybean roots reduces *Phytophthora* root rot. In: NORTH AM. CONFER. ON MYCORRHIZAE, 3., Athens, 1977. Abstract. Inst. for Mycorrhizal Res. Dev., 1977. 10p.

fresca três vezes maior e um aumento de 65% no peso da matéria seca em relação às não micorrizadas. Em plantas de abacate não foi detectada quimiotaxia de zoosporos de *Phytophthora cinnamomi* por raízes micorrizadas. O mesmo patógeno não teve seu desenvolvimento alterado por *G. fasciculatus* em raízes de abacate; por outro lado, o simbiote estimulou o crescimento de plântulas na presença ou ausência de *P. cinnamomi* (MENGE *et alii*, 1977; MATARÉ & HATTINGH, 1978; Hall & Finch⁷, citados por SCHENCK & KELLAM, 1978). Ramirez⁸, citado por SCHENCK & KELLAM (1978) estudou o efeito de *G. macrocarpus* var. *macrocarpus*, *Gigaspora heterogama* e *G. margarita* sobre *Phytophthora palmivora* em mamão; não houve redução significativa na porcentagem de raízes infectadas pelo patógeno, embora *G. macrocarpus* e *G. heterogama* tivessem aumentado significativamente a altura das plantas; o peso das raízes inoculadas com os simbiontes e com o patógeno foi significativamente menor que o peso das raízes de plantas inoculadas somente com *P. palmivora*. Os resultados mostraram que os EMVA tiveram um efeito positivo (aumento do peso das plantas), negativo (redução do peso das raí-

⁷ HALL, J.B. & FINCH, H.C. Mycorrhizas in roots of avocado: effect upon chemotaxis of *Phytophthora cinnamomi* zoospores. Proc. Amer. Phy. Soc., 1:86, 1974. (Abstract).

⁸ RAMIREZ, B.N. Influence of endomycorrhizae on the relationship of inoculum density of *Phytophthora palmivora* in soil to infection of papaya roots. Gainesville, 1974. 45p. (M.S. Thesis- Univ. of Florida).

zes) e nenhum efeito sobre a infecção pelo patógeno. Em plantas de trigo não foram notadas diferenças quanto à incidência de *Gaeumannomyces graminis* em raízes com e sem micorriza. Por sua vez, a presença de *G. mosseae* em raízes de soja não afetou a severidade de *Pythium* (WINTER, 1951; CHOU & SCHMITTHENER, 1974)..

O primeiro estudo sobre a interação entre nematóides e fungos micorrízicos foi relatado em 1972. As pesquisas têm revelado que essas interações são altamente específicas, recíprocas e complicadas pelo grau de suscetibilidade do hospedeiro ao patógeno e pelo nível de P no solo. Os FMVA podem afetar as várias fases reprodutivas do nematóide e este, por seu turno, pode afetar a esporulação do endófito. Os resultados dessa complexa interação traduzem-se pela diminuição do número de galhas, do número de larvas que atingiu a fase adulta e da população de nematóides; aumento dos números de larvas recuperadas e de ovos e aumento simultâneo do número de galhas e do desenvolvimento da planta; ausência de efeito do extrato radicular sobre a mobilidade da larva; supressão mútua da reprodução com redução do número de esporos micorrízicos e de nematóides. De modo geral, entretanto, os resultados têm mostrado

um efeito antagonista dos FMVA, tanto sobre nematóides sedentários, como os dos gêneros *Heterodera*, *Meloidogyne* e *Tylenchulus* quanto sobre os endoparasitas migradores dos gêneros *Pratylenchus* e *Radopholus*. A resposta do hospedeiro varia desde a manifestação menos severa dos sintomas, menor número de nematóides penetrando e se desenvolvendo nas raízes até pouca produção de galhas. Pesquisas recentes têm mostrado que a inoculação com FMVA ou a adição de fósforo aumentam a tolerância do hospedeiro ao ataque de nematóides (FOX & SPASOFF, 1972; SCHENCK *et alii*, 1975; ATILANO *et alii*, 1976; RONCADORI & HUSSEY, 1977; HUSSEY & RONCADORI, 1978; KELLAM & SCHENCK, 1978; Baltruschat *et alii*, Sikora & Schonbeck, citados por SCHENCK & KELLAM, 1978; BAGYARAJ *et alii*, 1979; SITARAMAIAH & SIKORA, 1982; SURESH *et alii*, 1985; GRANDISON & COOPER, 1986; SMITH *et alii*, 1986a; ZAMBOLIM, 1987).

Com relação às doenças causadas por vírus, poucos são os trabalhos que tratam da interação desse patógeno com micorrizas. Parece que a presença da simbiose estimula a ação do patógeno no sentido de aumentar a virulên-

cia. Evidências experimentais indicam que o aumento da virulência e a intensificação da taxa reprodutiva dos vírus pode ser devida ao melhor estado nutricional das plantas micorrizadas. Verificou-se uma alta concentração do vírus do mosaico do fumo em células portadoras de estágios arbusculares. Isso indica que o acúmulo de partículas virais foi favorecido em regiões com alto metabolismo de fosfato e altas concentrações de ácidos nucleicos e proteínas, os quais são resultantes das trocas entre micorriza e hospedeiro (SCHONBECK & SCHINZER, 1972; DAFT & OKUSANYA, 1973; DEHNE, 1982; JABAJI-HARE & STOBBS, 1984).

Quanto à interação entre doenças bacterianas e micorrizas apenas dois relatos constam da literatura. No primeiro deles não se observou relação entre a porcentagem de raízes de plântulas de pêssigo micorrizadas e a suscetibilidade ao cancro bacteriano causado por *Pseudomonas syringae*. No segundo caso a inoculação com micorriza reduziu a severidade da murcha bacteriana em plantas de tomate causada por *Pseudomonas solanacearum* (WEAVER & WEHNUT, 1975; HALOS & ZORILLA, 1979).

2.5.2. Interação FMVA - cebola - patógenos

A associação de cebola com fungos micorrízicos tem sido exaustivamente estudada sob o aspecto nutricional e em função, principalmente, da absorção de P e suas correlações. O mesmo não ocorre, entretanto, quanto à inter-

ação com patógenos. A literatura expõe apenas os resultados de seis trabalhos, sendo quatro relacionados com *P. terrestris* e dois referem-se a nematóides. Não há relatos desse tipo de interação envolvendo os demais fitopatógenos.

SAFIR (1968), trabalhando com *P. terrestris* e *Endogone mosseae* em solo sem adição de nutrientes, obteve os seguintes resultados: menor porcentagem de infecção pelo patógeno e maior tamanho das plântulas micorrizadas do que o controle sem micorriza, o qual mostrou sinais evidentes de deficiência nutricional; maior quantidade de açúcares redutores foi extraída de raízes micorrizadas de plantas com 80 dias de idade em comparação com aquelas sem micorriza. Plantas micorrizadas e não micorrizadas supridas com adição de nutrientes apresentaram porcentagens de infecção e quantidade de açúcares redutores semelhantes. O autor sugeriu que o maior teor de açúcar em plantas micorrizadas contribuiu para diminuir a porcentagem de infecção pelo patógeno e que plantas não micorrizadas e com deficiência nutricional são incapazes de sintetizar tais açúcares.

BECKER (1976) inoculou raízes micorrizadas e não micorrizadas com *P. terrestris* e observou que a invasão do patógeno ocorreu apenas naquelas não micorrizadas; a restrição à penetração de raízes micorrizadas foi atribuída ao engrossamento da parede celular da planta hospedeira nos pontos de entrada do patógeno. Nesses locais houve formação de calosidades mais desenvolvidas. Num outro estudo dessa

mesma interação BECKER & GERDEMANN (1977) inocularam segmentos de raízes micorrizadas e não micorrizadas com *P. terrestris*, utilizando câmaras plásticas. As raízes micorrizadas, de cor amarela, permaneceram amarelas enquanto que aquelas sem micorriza, de cor branca, tornaram-se rosadas após a infecção. Raízes micorrizadas tiveram poucas camadas de células corticais penetradas por *P. terrestris*. O crescimento do patógeno parece ter sido limitado pelo espessamento da parede celular. MCGRAW & ZALEWSKI (1977) verificaram que uma área antiga de produção comercial de cebola cultivada há 20-25 anos mostrou níveis baixo e alto, respectivamente, para MVA e raiz rosada. O contrário ocorreu em solos cultivados há dois anos; os resultados observados podem ser devidos a diferenças na fertilidade entre os campos de cebola "velho" e "novo"; a baixa incidência de raiz rosada pode ter sido devida à proteção proporcionada pelos FMVA. As pesquisas realizadas para estudar a interação de micorizas com nematóides em cebola são bastante recentes. KOTCON *et alii* (1985) verificaram que plantas inoculadas com *G. fasciculatum* e com *Meloidogyne hapla* tiveram maior crescimento do que aquelas contendo somente o patógeno; os resultados indicaram que a associação micorrízica pode aumentar a tolerância da planta ao patógeno; por outro lado, o número de esporos do fungo micorrízico diminuiu precocemente denotando a existência de competição pelos nutrientes do hospedeiro. MACGUIDWIN *et alii* (1985), por sua vez, obtive-

ram resultados opostos: *G. fasciculatum* não aumentou a tolerância de plantas de cebola a *M. hapla*; a simbiose proporcionou um melhor desenvolvimento do hospedeiro mas esse efeito não ocorreu na presença do patógeno; o número de nematóides não foi afetado pela presença da micorriza nem pelo nível de fósforo; entretanto, parece que as plantas micorrizadas interferiram na habilidade do parasita em penetrar na célula hospedeira.

2.5.3. Interação entre FMVA - tomateiro - patógenos

O tomateiro tem sido uma das espécies hospedeiras mais estudadas em relação à interação com fungos micorrízicos e patógenos e, entre estes, destacam-se *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e nematóides.

Raízes pré-colonizadas por *G. mosseae* e outros fungos micorrízicos foram menos danificadas por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; houve diminuição do número de folhas amareladas e da perda de eletrólitos pelo caule e folhas. Posteriormente, verificou-se que o menor grau nos danos foi devido principalmente à diminuição na taxa de disseminação da murcha; raízes e caules continham menos micélio e a disseminação tanto horizontal como vertical do patógeno foi limitada; por outro lado, o efeito antagônico dos FMVA sobre a murcha diminuiu claramente com o aumento da densidade do inóculo patogênico (DEHNE & SCHONBECK, 1975, 1979a; SCHONBECK, 1978). Numa série de 4 trabalhos CARON *et alli* (1985, 1986a,b,c) estudaram a influência do substrato e os

efeitos da seqüência de inoculação, da concentração de P e do período de infecção na interação entre *Glomus intraradicis* e *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* em tomate. A presença de *G. intraradicis* diminuiu a necrose radicular em todos os substratos e a população de *Fusarium* foi afetada variando em intensidade, dependendo do substrato utilizado. No segundo experimento as plantas foram inoculadas com os fungos micorrízicos quatro semanas antes, simultaneamente e quatro semanas após a inoculação com *Fusarium*. Em todos os tratamentos houve redução da podridão radicular e da população de *Fusarium*, ou seja, não ocorreu influência da seqüência de inoculação dos dois microrganismos. A colonização das raízes por *G. intraradicis* aumentou significativamente quando *Fusarium* foi inoculado simultaneamente ou quatro semanas antes do fungo micorrízico. Não houve aumento da matéria seca das plantas contendo apenas *G. intraradicis* mas a matéria seca perdida por causa da murcha foi compensada quando o fungo micorrízico foi inoculado depois do patógeno. No terceiro experimento o aumento P disponível no substrato, bem como do conteúdo de P nas raízes e folhas não teve efeito sobre a população de *Fusarium* nem sobre o grau de necrose nas raízes. Houve, porém, uma diminuição na colonização por *G. intraradicis*. A presença do fungo micorrízico, por sua vez, provocou uma diminuição da população de *Fusarium* e da necrose em todos os níveis de P. O peso médio da matéria seca das plantas não se alterou com a presença de *G. intraradicis*.

em todas as concentrações de P, mas diminuiu para as plantas inoculadas com o patógeno. Os autores concluíram que o aumento do P proveniente da ação do fungo micorrízico não pode explicar a limitação ao desenvolvimento da doença e do patógeno observada. O processo de infecção foi estudado durante 12 semanas e a presença de *G. intraradiciis* reduziu a necrose radicular na 5^a, 11^a e 12^a semanas e não foi observado efeito significativo nas demais; quanto à colonização micorrízica e população de *Fusarium*, os resultados foram constantes durante as 12 semanas; em vista disso, os autores sugeriram que os parâmetros a serem avaliados num experimento desse tipo devem ser medidos em várias épocas para assegurar a obtenção de dados representativos. MCGRAW & SCHENCK (1978) não obtiveram resultados positivos da interação entre *Glomus etunicatus* e *G. mosseae* com *F. oxysporum* f.sp. '*lycopersici*'; plantas provenientes tanto de sementes como de plântulas micorrizadas mostraram sintomas precoces de clorose e murcha em comparação com o controle sem micorriza; esses resultados independentemente do nível de inóculo e da espécie de fungo simbiote utilizado. BAATH & HAYMAN (1983) estudaram a interação de MVA com murcha de *Verticillium*; comparando os tratamentos com e sem micorriza os autores não encontraram diferenças no grau de intensidade da doença, bem como na redução do desenvolvimento das plantas.

Quanto à interação com nematóides, a maioria dos trabalhos revisados relata um efeito positivo dos FMVA no

sentido de controlar o patógeno. Sikora & Schonbeck⁹, citados por SCHENCK & KELLAM (1978), inocularam *G. mosseae* e nematóides em tomate, cenoura, aveia e fumo; observaram redução no número de larvas de *Meloidogyne incognita* que se transformou em adultos e eliminação da população de *M. hapla* em plantas de cenoura, por 18 semanas. *G. fasciculatum* afetou várias fases do ciclo vital de três nematóides: o número e o tamanho das galhas de *M. incognita* e *Meloidogyne javanica* foram menores; a inoculação dos mesmos nas raízes provocou um aumento na infecção e produção de esporos do fungo micorrízico; reduziu a penetração e o desenvolvimento da fase juvenil; atrasou a formação da matriz gelatinosa e a produção de ovos foi diminuída em *Rotylenchulus reniformes*; as raízes micorrizadas não impediram a penetração de larvas de *M. incognita* e o extrato radicular de plantas micorrizadas causou a morte de 50% das larvas em quatro dias (BAGYARAJ *et alii*, 1979; SITARAMAIAH & SIKORA, 1982; SURESH *et alii*, 1985). Plantas de tomate e trevo branco inoculadas com *G. margarita*, *G. mosseae*, *G. fasciculatum* e *Glomus tenue* foram mais resistentes a *M. hapla* sob quatro níveis de fósforo e se desenvolveram melhor quando pré-infectadas com os fungos; o número de indivíduos juvenis e adultos por grama de raiz foi menor nos tratamentos micorrizados; os autores sugeriram que o maior nível de resistência observado foi devido a alguma provável alteração fisiológica do sistema radicular e não inteiramente ao melhor estado nutricional das

⁹SIKORA, R.A. & SCHONBECK, F. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza (*Endogone mosseae*) on population dynamics of the root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita* and *M. hapla*). In: VIII INTERN. CONGR. PLANT. PROTECT. 5: 158-166, 1975.

plantas micorrizadas (COOPER & GRANDISON, 1986). THOMSON CASON *et alii* (1983) são os autores do único trabalho onde a associação micorrízica não controlou a ação do nematóide; raízes inoculadas com *G. margarita* e *G. mosseae* não afetaram a infecção por *M. incognita*, quando comparadas com as não micorrizadas, independentemente do nível de P; na concentração mais alta do nutriente o peso das raízes foi maior; houve aumento da penetração e do número de ovos do patógeno e a colonização micorrízica decresceu em relação aos resultados obtidos no menor nível de P.

Três relatos ilustram a interação entre o tomateiro, fungos micorrízicos e doenças causadas por vírus. Em plantas micorrizadas com *G. macrocarpum* var. *geosporus* houve um aumento na multiplicação do vírus aucuba e a quantidade de vírus X produzida dependeu do estágio de desenvolvimento da micorriza; os resultados foram atribuídos ao alto nível de P nas plantas micorrizadas pois a multiplicação do vírus também foi maior em plantas não micorrizadas mas com a mesma concentração do nutriente (DAFT & OKYSANYA, 1973). Raízes inoculadas com *Glomus* sp. e o vírus do mosaico do fumo (TMV) tiveram um título de vírus maior do que naquelas não micorrizadas; o aumento da multiplicação virótica foi observado em células contendo o estágio arbuscular do fungo micorrízico (SCHENBECK & SPENGLER, 1978; JABAJI-HARE & STOBBS, 1984).

Com relação às bacterioses, apenas um caso é citado pela literatura. Plantas inoculadas somente com micorriza e com micorriza mais *P. solaneacearum* tiveram crescimento, peso, produção e sanidade semelhantes e maiores do que aquelas não micorrizadas; a inoculação prévia das raízes com a micorriza reduziu a incidência da murcha bacteriana (HALOS & ZORILLA, 1979).

2.5.4. Mecanismos de resistência

Os meios pelos quais as micorrizas afetam patógenos e doenças ainda estão longe de ser entendidos. A natureza do efeito exercido pelos fungos micorrízicos sobre o patógeno não é conhecida na maioria dos casos.

Vários mecanismos de controle têm sido postulados, porém, poucos foram demonstrados.

2.5.4.1. Mecanismos de resistência por alterações morfológicas

- a) Espessamento da parede celular do hospedeiro, através da lignificação e produção de outros polissacarídeos, impedindo a penetração ou disseminação do patógeno. Essa alteração é provocada por ação da micorriza e pode ser responsável, inclusive, pela restrição do fungo simbiote ao córtex radicular.

- b) A associação micorrízica produz um sistema vascular mais vigoroso, elevando o fluxo de nutrientes e proporcionando maior força mecânica à planta. Como resultado, diminuem os danos causados por patógenos vasculares.
- c) Em plantas micorrizadas e atacadas por nematóides há produção de sincícios menores e de poucas células gigantes do patógeno. Essa anormalidade retarda o desenvolvimento da larva para a fase adulta e produz nematóides de menor tamanho.
- d) As estruturas formadas pelos fungos micorrízicos dentro das células corticais podem competir por espaço com os patógenos. Além disso para certos parasitas, como nematóides, as células colonizadas pelo fungo simbiote podem tornar-se fonte desfavorável de alimento.

2.5.4.2. Mecanismos de resistência por alterações fisiológicas e bioquímicas

- a) O tecido micorrizado contém uma grande quantidade de enzimas quitinolíticas, cuja função é degradar os arbúsculos. Essas mesmas enzimas devem agir também sobre fungos fitopatogênicos limitando o seu crescimento.
- b) Através de indução micorrízica ocorre uma alteração na composição dos exsudatos radiculares. Estes podem inibir o desenvolvimento do patógeno ou estimular o crescimento de microrganismos antagonistas, formando uma rizosfera protetora ao longo da raiz.

- c) O fungo micorrízico utiliza o carboidrato excedente liberado pelas raízes, reduzindo a atração por patógenos do solo.
- d) Alta disponibilidade de P provoca o aumento do conteúdo de fosfolipídeos. Isso torna a membrana menos permeável levando a uma menor exsudação. Conseqüentemente, diminui a atração por fungos e bactérias fitopatogênicas. Por outro lado, baixa disponibilidade de P aumenta a resistência a doenças causadas por vírus.

A resistência a patógenos do solo conferida pelo sistema micorrízico depende, também, da virulência dos mesmos. Alta virulência ou altos níveis de inóculo de um parasita menos virulento tendem a diminuir a efetividade da simbiose (ZAK, 1964; HUSSEY & RONCADORI, 1978; DEHNE & SCHONBECK, 1979b; SCHENCK, 1981; DEHNE, 1982; BAGYARAJ, 1984; MILLER *et alii*, 1986; ZAMBOLIM, 1987).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de investigação

Este trabalho foi realizado no campo experimental e laboratórios do Departamento de Genética, ESALQ, localizado no campus da USP em Piracicaba, SP, latitude $22^{\circ}42'30''\text{S}$.

3.2. Preparo do substrato

Para o preparo do solo utilizou-se terra de baixa fertilidade e areia lavada. Foram empregados três substratos:

- a) mistura de terra e areia, na proporção de duas partes de terra para uma de areia;
- b) mistura de terra com bagacilho de cana decomposto, na proporção de 2:1, respectivamente; e
- c) mistura de terra e areia, na proporção de 1:9, nessa ordem; para cada parte dessa mistura foram acrescentadas três partes de vermiculita expandida estéril.

Os substratos (a) e (b) foram autoclavados a 120°C e 1 atm de pressão durante duas horas; o substrato (c) foi colocado numa caixa de cimento amianto com capacidade para 500 litros e submetido ao processo convencional de fumigação; usou-se uma lata de brometo de metila, cujo conteúdo é de 393 cm³ (680,4g); a mistura permaneceu sob a ação do gás durante três dias e foi utilizada após igual período, conforme prescreve a recomendação.

3.3. Cultivares hospedeiros

Foram utilizados três cultivares de cebola: Pira Dura, Cojumatlan Roxa e Roxa do Barreiro. O primeiro foi adotado como padrão referencial de suscetibilidade e os demais como padrões de resistência a *P. terrestris*.

Os cultivares de tomate Santa Cruz Kada e Rio Fuego foram adotados como padrões referenciais de suscetibilidade e resistência, respectivamente, a *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

As sementes tiveram procedência do Setor de Hortaliças do Instituto de Genética da ESALQ/USP, da Asgrow do Brasil Sementes Ltda. e de Sementes Agrocere S.A.

3.4. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares

3.4.1. Isolados utilizados

Foram utilizadas quatro espécies de fungos micorrízicos: *Glomus leptotichum* Schenck & Smith,

Acaulospora scrobiculata Trappe, *Gigaspora heterogama* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe e *G. margarita* Becker & Hall. Os isolados tiveram procedência do Departamento de Solos, da ESALQ/USP.

3.4.2. Multiplicação

Para a multiplicação dos FMVA foram utilizados milho e painço como plantas substrato. O solo constou de mistura de duas partes de terra para uma de areia e, após a esterilização por autoclavagem, foi acondicionado em vasos. O método de multiplicação consistiu no seguinte:

- a) retirada de cerca de 3 cm de solo de cada vaso, espalhando-se uma fina camada de inóculo sobre a superfície, cobrindo-se, em seguida, com a terra previamente retirada; o inóculo de cada fungo foi constituído por uma mistura de terra, raízes, esporos e micélio;
- b) plantio de três sementes de milho e semeadura a lanço do painço em cada vaso;
- c) colocação dos vasos sobre bancadas;
- d) coleta do inóculo, eliminando-se a parte aérea das plantas e reservando a porção contendo solo e raízes; as raízes foram cortadas em pedaços miúdos e devolvidas ao restante do inóculo; este, após ser bem homogeneizado, foi acondicionado assepticamente em sacos plásticos e armazenados em lugar fresco e seco.

3.4.3. Isolamento e contagem dos esporos

Os esporos de cada espécie foram isolados e contados utilizando-se a técnica de peneiramento úmido e decantação de GERDEMANN & NICOLSON (1963) e a técnica de centrifugação em sacarose de Jenkins¹⁰, citado por DANIELS & SKIPPER (1982), adaptadas. Os passos foram os seguintes:

- a) 100 ml de inóculo bem homogeneizado foram transferidos para um canecão, onde adicionou-se água; agitou-se vigorosamente e deixou-se sedimentar por dois minutos;
- b) o líquido sobrenadante foi passado sucessivamente por um conjunto de quatro peneiras de solo de 500, 250, 100 e 50 mesh, nessa ordem;
- c) acrescentou-se água novamente ao sedimentado do canecão, e o processo foi repetido por quatro vezes;
- d) o material retido nas peneiras foi coletado em um bequer, lavando-se bem cada uma delas;
- e) adicionou-se ao bequer 30 ml de solução de sacarose a 50%; agitou-se e deixou-se sedimentar;
- f) O sobrenadante contendo os esporos foi passado pelas peneiras de 100 e 50 mesh;
- g) os esporos retidos nas peneiras foram lavados para a retirada do excesso de sacarose; em seguida, os esporos foram transferidos para um bequer;
- h) para a contagem dos esporos foi utilizada uma placa ne-

¹⁰ JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant. Dis. Rep. 48: 692, 1964.

matológica, subdividida em seis partes iguais; um volume da solução de esporos foi adicionado à placa em quantidade suficiente para encher as canaletas; utilizando microscópio estereoscópico contou-se o número de esporos de duas subdivisões; em seguida multiplicou-se o valor obtido por três; repetiu-se a operação até acabar a solução do bequer; somando-se todas as contagens, o resultado foi dado em nº de esporos/100 ml de solo.

3.4.4. Inoculação

Utilizou-se inóculo total, ou seja, composto por esporos, pedaços de raízes infectadas e micélio, misturado com terra. As inoculações foram feitas em condições assépticas, empregando-se duas técnicas:

- a) quando se fez o plantio direto das sementes nos vasos, uma fina camada do inóculo foi espalhada a 2 cm de profundidade após retirada prévia do solo; este foi devolvido após a inoculação;
- b) quando se produziram mudas micorrizadas em bandeja, o inóculo foi misturado homogeneamente ao solo total.

3.5. Fungos patogênicos

3.5.1. Obtenção e multiplicação dos isolados

Pyrenochaeta terrestris foi isolado de raízes com sintomas caracte-

rísticos de raiz rosada, coletadas em área de cultivo de cebola do Instituto de Genética da ESALQ/USP. O isolamento do patógeno foi efetuado de acordo com a técnica descrita por NODA (1981). As raízes infectadas foram lavadas em água corrente; aquelas contendo picnídios foram separadas com o auxílio de microscópio estereoscópico e imersas em solução contendo três partes de água e uma de alvejante caseiro (solução a 5,2% de hipoclorito de sódio) durante dois minutos. Em seguida, as raízes foram colocadas sobre uma lâmina de vidro e examinadas ao microscópio estereoscópico; com o auxílio de duas agulhas os picnídios foram retirados das raízes e plaqueados sobre meio de cultura constituído de agar-água, mais o antibiótico tetraciclina; as placas foram deixadas à temperatura de 28°C, aproximadamente, e sob luz contínua. Após o crescimento micelial, fragmentos da cultura foram transferidos para meio de aveia sólido para a obtenção de um desenvolvimento mais vigoroso e produção de conídios; o meio foi composto por:

Aveia 40 g

Agar 15 g

Água 1000ml

e as placas foram mantidas em temperatura ambiente.

O isolado de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* raça 1, teve procedência da Seção de Microbiologia Fitotécnica do Instituto Agronômico de Campinas e foi multiplicado em meio líquido de ácido casamino, com a seguinte composição:

Glicose	15,0 g
Extrato de levedura	1,0 g
Ácido casamino	1,5 g
KH_2PO_4	1,5 g
Solução de Hoagland	10,0 g
Água	1000ml
Quemicetina	50,0 mg
Tetraciclina	50,0 mg

Fragmentos de meio sólido de BDA contendo o fungo foram transferidos assepticamente para os frascos com o meio líquido; estes, em seguida, foram colocados sob agitação descontínua, à temperatura ambiente e sob luz contínua durante quatro dias. Nestas condições uma grande quantidade de conídios foi produzida.

3.5.2. Preparo dos inóculos

Ambos os inóculos constaram de uma suspensão conidial e micelial. O inóculo de *P. terrestris* foi obtido da seguinte maneira: uma pequena quantidade de água estéril foi adicionada às placas-de-petri contendo a cultura do patógeno; em seguida, micélio e esporos foram varridos das placas com um pincel de pêlo de camelo e transferidos para um frasco de erlenmeyer. O inóculo contendo *Fusarium* bastou ser coado para a retirada dos fragmentos sólidos de BDA. O número de esporos de cada suspensão foi determinado

através da câmara de Neubauer (hematocitômetro); a concentração desejada em nº esporos/ml foi obtida por meio de diluições das duas suspensões.

3.5.3. Inoculação dos patógenos

A suspensão de esporos dos fungos patogênicos foi inoculada empregando-se duas técnicas:

- (a) na região das raízes de cada planta com o auxílio de uma seringa hipodérmica;
- (b) no solo total da sementeira através de pulverização e posterior homogeneização do substrato.

3.6. Avaliação das reações dos hospedeiros aos patógenos

3.6.1. Reação de cebola a *P. terrestris*

A avaliação foi feita através da Taxa de Infecção (TI) e do Índice de Infecção Porcentual (IIP).

a) Taxa de Infecção

Para cada parcela, contou-se o número de plantas com raízes com sintoma de infecção (raízes plasmolisadas, aspecto embebido de água, semitransparência, coloração rosada ou amarelo-marrom e apodrecimento) e o número de plantas com raízes saudáveis (NODA, 1981). A taxa de infecção foi dada pela fórmula:

$$TI = \frac{p.i.}{p.t.} \times 100$$

onde,

TI = taxa de infecção

p.i. = número de plantas com sintomas de infecção nas raízes;

p.t. = número total de plantas.

b) Índice de Infecção Porcentual

Essa expressão foi calculada pela fórmula (NODA, 1981):

$$IIP = \frac{\text{nº de raízes infectadas}}{\text{nº total de raízes}} \times 100$$

Com base na magnitude do parâmetro IIP, estabeleceu-se um critério para avaliação visual, através de notas de um a cinco, denominado de Índice de Infecção por Notas (IIN). As notas foram atribuídas em função do intervalo de classe, conforme consta a seguir:

Índice de Infecção Porcentual (IIP)	Índice de Infecção por Notas (IIN)
Intervalo de Classe	Notas
0 - 10%	1
10% - 20%	2
20% - 40%	3
40% - 70%	4
+ de 70%	5

O IIN médio foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\text{IIN médio} = \frac{a.1 + b.2 + c.3 + d.4 + e.5}{n^{\circ} \text{ total de plantas}}$$

onde,

a = número de plantas com nota 1;

b = número de plantas com nota 2;

c = número de plantas com nota 3;

d = número de plantas com nota 4;

e = número de plantas com nota 5.

3.6.2. Reação de tomate a *F. oxysporum* f.sp.

lycopersici

Para a avaliação das plantas doentes empregou-se o critério recomendado por WELMANN (1939) e modificado por TOKESHI (1966). A classificação foi feita separando-se as plantas em classes, conforme segue:

NOTA	SINTOMAS APRESENTADOS PELAS PLANTAS
0	Plantas saudáveis, sem sintomas externos ou internos observáveis no caule cortado na altura do primeiro internódio.
20	Vasos coloridos na região do primeiro internódio sem outros sintomas visíveis.
40	Vasos coloridos até a altura da primeira folha com, pelo menos, um folíolo com amarelecimento.
60	Vasos coloridos até a metade do comprimento do caule com duas ou mais folhas com amarelecimento.
80	Vasos coloridos até próximo ao ponteiro; a maioria das folhas murchas, com exceção do ponteiro.
100	Plantas mortas, ou com vasos coloridos e folhas murchas até o ponteiro.

3.7. Avaliação do efeito dos fungos micorrízicos

O efeito dos FMVA sobre as plantas e os patógenos foi avaliado através das seguintes características: altura das plantas; peso da matéria seca da parte aérea; peso da matéria seca das raízes; taxa de esporulação dos FMVA e porcentagem de infecção micorrízica nas raízes.

a) Altura das plantas (AP)

A partir de meio centímetro da superfície do solo mediu-se a altura de cada planta da parcela obtendo-se uma média.

b) Matéria seca da parte aérea (MA)

As plantas de cada parcela foram cortadas a meio centímetro da superfície do solo, acondicionadas em sacos de papel e deixadas em estufa até obter-se peso constante. Em seguida, as parcelas foram pesadas individualmente.

c) Matéria seca das raízes (MR)

As raízes foram obtidas através da retirada do solo dos vasos por lavagem. As parcelas foram acondicionadas em sacos de papel, individualmente, e deixadas em estufa para secar. Após a obtenção de valor constante foram pesadas.

d) Taxa de esporulação (TE)

Após a coleta da parte aérea das plantas e antes da lavagem das raízes, o solo de cada vaso foi recuperado. Essa etapa foi feita cuidadosamente a fim de não danificar o sistema radicular. Depois de bem homogeneizado foi retirada uma amostra de 100 ml de terra de cada vaso. A taxa de esporulação de cada FMVA foi obtida conforme o método descrito em 3.4.3.

e) Porcentagem de infecção micorrízica (IM)

Para a quantificação da infecção micorrízica utilizou-se o método de coloração de raízes descrito por PHILLIPS & HAYMAN (1970), seguido da determinação da porcentagem de infecção pelo método "Gridline Intersect" descrito por GIOVANNETTI & MOSSE (1980).

Método de coloração das raízes - Foram coletadas raízes de várias partes do sistema radicular de cada planta, de tal maneira a se obter uma amostra representativa. As raízes foram lavadas e preservadas em AFA (álcool - 200 ml; formol - 13 ml; ácido acético - 5 ml). Para o processo de coloração as raízes foram acondicionadas em cápsulas plásticas perfuradas Tissue-Tek (KORMANIK & MCGRAW, 1982). Para evitar o escape das raízes pequenas as cápsulas foram forradas internamente com tela de náilon. As cápsulas contendo as raízes foram lavadas em água corrente para eliminar o AFA e colocadas num bequer. Adicionou-se solução de KOH a 10% até recobrir as cápsulas, deixando-se em banho-maria a 90°C por 1 hora. Em seguida, retirou-se o KOH lavando-se as raízes três vezes, no mínimo. O KOH clarifica o citoplasma e o núcleo celular e permite a penetração do corante. Na etapa seguinte adicionou-se solução de HCl a 1% até cobrir as cápsulas, deixando-se de 3 a 4 minutos. Após esse período eliminou-se o HCl sem lavar as raízes pois o corante age em meio ácido. O corante foi adicionado até co-

brir as cápsulas e estas foram colocadas em banho-maria a 90°C durante 10 minutos. A seguir o corante foi eliminado e as raízes foram retiradas das cápsulas e cada amostra foi colocada num recipiente juntamente com a solução descorante.

Solução corante: misturaram-se volumes iguais de glicerina, ácido lático e água destilada e mais 0,5 g de trypan-blue.

Solução descorante: misturaram-se partes iguais de glicerina, ácido lático e água destilada.

Determinação da porcentagem de infecção - Cerca de 0,5 g das raízes coloridas foram cortadas e espalhadas uniformemente sobre uma placa-de-petri com o fundo quadriculado, cujos quadrados mediam 0,5 polegadas. A técnica consistiu em contar, sob microscopia estereoscópica, o número de intersecções das raízes com as linhas horizontais ou verticais do quadriculado (numa só direção) que apresentavam, naquele ponto, estruturas fúngicas características de FMVA. O mesmo procedimento foi feito para a contagem das intersecções sem a presença de tais estruturas nas raízes. Para o cálculo da porcentagem de raízes infectadas (IM) utilizou-se a fórmula:

$$IM = \frac{\text{nº de pontos de intersecção com presença de micorriza}}{\text{nº total de pontos de intersecção}} \times 100$$

3.8. Experimentos

3.8.1. Experimento I - Eficiência de FMVA em cebola

O experimento foi conduzido em casa de vegetação. Utilizou-se o substrato citado no item 3.2 (a), cuja análise detectou 3,09 ppm de P. O solo foi acondicionado em sacos plásticos, com um peso médio de 4 Kg da mistura/vaso. Os vasos foram arranjados sobre uma bancada. Foram estudados os efeitos de três espécies de fungos micorrízicos: *Glomus leptotichum*, *Acaulospora scrobiculata* e *Gigaspora heterogama* sobre dois cultivares de cebola: Pira Ouro e Cojumatlan Roxa.

Os FMVA foram inoculados segundo a técnica descrita em 3.4.4(a), colocando-se cerca de 40ml do inóculo, cuja concentração média foi de 3000 esporos/100 ml de solo. Em seguida, procedeu-se ao plantio da cebola, colocando-se 30 sementes/vaso. Após 40 dias do plantio foi feita adubação nitrogenada leve, com nitrato de amônio. Aos 45 dias fez-se um desbaste deixando-se 12 plantas/vaso.

As plantas foram coletadas aos 74 dias do plantio, avaliando-se os seguintes caracteres: altura das plantas (AP); matéria seca da parte aérea (MA); matéria seca das raízes (MR); e porcentagem de infecção micorrízica (IM).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições, além do controle sem os fungos micorrízicos; o número de plantas por parcela foi 12.

3.8.2. Experimento II - Eficiência de FMVA em tomateiro

Os estudos foram conduzidos em condições de telado e de casa de vegetação. Para a obtenção das mudas fez-se uso de bandejas do tipo "speedling" contendo 128 células e com capacidade para 40 ml de solo/célula. O solo, contendo 7ppm de P, foi preparado conforme o item 3.2(c) e inoculado com os fungos micorrízicos, como consta em 3.4.4(b), com uma concentração de 500 esporos/célula, aproximadamente. Utilizaram-se os FMVA *G. leptotichum*, *A. scrobiculata* e *G. heterogama*. As bandejas foram enchidas com a terra e semeou-se o cv. Santa Cruz Kada, colocando-se 3 sementes/célula; após a germinação desbastou-se para 1 planta/célula. As bandejas foram levadas para telado e arranjadas em bancadas. O transplante das mudas, com o torrão, foi feito aos 36 dias da semeadura, para sacos plásticos com capacidade para 4 litros, utilizando-se a mesma mistura de terra. Foram colocadas 2 plantas/parcela e os vasos foram arranjados sobre bancadas. Foi feita adubação semanal, utilizando-se solução nutritiva com baixo teor de P, com a seguinte composição¹¹:

¹¹LIN, M.T. (Bioplanta-Tecnologia de Plantas Ltda., Paulínia, SP). Comunicação pessoal, 1986.

Macronutrientes	Solução estoque. g/500ml de água	Dosagem ml/l
NH_4NO_3 adubo	57,0	1
NH_4NO_3 químico	28,5	1
KNO_3	95,7	2
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	147,0	1
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	123,0	1
$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4) \times 12\text{H}_2\text{O}$	70,0	2
P_2O_5	15,0	1
Micronutrientes		
H_3BO_3	0,465	1
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	0,170	1
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,145	1
$\text{CaSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,031	1
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_2\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$	0,155	1
$\text{CoSO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,0125	1

As plantas foram coletadas aos 85 dias da semeadura e avaliaram-se os seguintes parâmetros: AP; MA; MR e IM.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 repetições, além do controle sem os fungos micorrízicos; o número de plantas/parcela foi 2.

3.8.3. Experimento III - Reação de cebola à
inoculação simultânea de FMVA e de
P. terrestris.

O experimento foi instalado em condições de casa de vegetação. Empregou-se o substrato descrito em 3.2(b), cuja análise mostrou a presença de 95 ppm de P. Inoculou-se o patógeno conforme está descrito em 3.5.2 e 3.5.3(b); foram aplicados 700 ml de suspensão, cuja concentração foi de 1×10^7 conídios/ml. O solo foi acondicionado em copos plásticos com capacidade para 300 ml e arranjados sobre bancadas. Em seguida fez-se a inoculação dos fungos micorrízicos como está descrito em 3.4.4(a), colocando-se 20 ml de inóculo/copo; foram utilizados os FMVA *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* com concentrações de 3015 e 5594 esporos/100 ml de solo, respectivamente. Procedeu-se à sementeira, usando-se os cultivares Pira Dura e Roxa do Barreiro; semearam-se 20 sementes/copo e, após a germinação, desbastou-se para 15 plântulas. Não foi feita adubação durante o experimento.

As plantas foram colhidas aos 108 dias da sementeira e foram avaliados os caracteres: AP, MA, MR e Índice de Infecção por Notas (IIN).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com 3 repetições, além das testemunhas: sem micorriza e sem patógeno; sem micorriza e com patógeno; com micorriza e sem patógeno. Utilizaram-se 15 plantas/parcela.

3.8.4. Experimento IV - Reação de cebola à inoculação de FMVA e de *P. terrestris*.

O experimento foi conduzido em telado e casa de vegetação. As etapas, citadas a seguir, foram as mesmas descritas para o Experimento II: solo; técnica de inoculação, espécies e concentração de esporos dos FMVA; e obtenção e processo de transplante das mudas. Utilizaram-se os cultivares Pira Dura e Roxa do Barreiro colocando-se 3 plantas/vaso com capacidade para 2,5 l de terra. Os vasos foram colocados sobre canteiros forrados com plástico impermeável. Inoculou-se o patógeno 4 dias após o transplante injetando-se, na região das raízes, 10 ml/planta da suspensão patogênica contendo 1×10^7 conídios/ml.

A adubação foi semanal, alternando-se aplicações da solução nutritiva citada no item 3.8.2 com nitrato de amônio e uréia em dosagens baixas.

O experimento foi concluído aos 111 dias da semeadura, fazendo-se as seguintes avaliações: AP, MA, MR, IM, Taxa de Esporulação (TE) e Taxa de Infecção (TI).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições, além das testemunhas: sem micorriza e sem patógeno; sem micorriza e com patógeno; com micorriza e sem patógeno. O número de plantas/parcela foi 3.

3.8.5. Experimento V - Reação do tomateiro à inoculação de FMVA e de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Os estudos foram conduzidos em telado e casa de vegetação. As etapas, citadas a seguir, foram as mesmas descritas para o Experimento II: solo; técnica de inoculação, espécies e concentração de esporos dos FMVA; obtenção e processo de transplante das mudas; e adubação. Foram utilizados dois cultivares de tomate: Santa Cruz Kada e Rio Fuego. Em seguida ao transplante, os vasos foram colocados sobre can- teiros forrados com plástico impermeável. O patógeno foi inoculado 4 dias depois do transplante injetando-se, na região das raízes, 10 ml/planta da suspensão, cuja concentração foi de 1×10^7 conídios/ml.

O ensaio foi concluído aos 73 dias da semeadura quando os sintomas, no tratamento controle inoculado somente com o patógeno, mostravam-se bem definidos. Foram avaliados os seguintes caracteres: AP, MA, MR, IM e Grau de Fusariose (GF).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 9 repetições, além dos tratamentos-controle: sem micorriza e sem patógeno; sem micorriza e com patógeno; com micorriza e sem patógeno. O número de plantas/parcela foi 2.

3.9. Procedimentos estatísticos

Nas análises da variância, dados obtidos em porcentagens foram transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$; dados de contagens em $\sqrt{x}$; dados de notas em $\sqrt{x+0,5}$, de acordo com STEEL & TORRIE (1960).

Para detectar diferenças entre médias de fungo utilizou-se o teste de Tukey, citado por PIMENTEL GOMES (1973).

As tabelas de resultados contêm os dados originais, não transformados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento I - Eficiência de FMVA em cebola

As espécies micorrízicas *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* estimularam de forma altamente significativa o desenvolvimento das plantas de cebola de ambos os cultivares, Pira Dura e Cojumatlan Roxa. Estatisticamente, não houve diferenças entre os dois FMVA quanto aos resultados, os quais foram constantes para os quatro parâmetros avaliados, Altura das Plantas (AP), Matéria Seca da Parte Aérea (MA), Matéria Seca das Raízes (MR) e Porcentagem de Infecção Micorrízica (IM). Os valores obtidos para AP, MA e MR foram, respectivamente, 3, 10 e 6 vezes maiores que os da testemunha. O efeito positivo de *G. heterogama* sobre as plantas, por sua vez, mostrou-se muito inferior do que aquele obtido por *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* e não diferiu estatisticamente da testemunha sem micorriza. Os resultados, de uma maneira geral, estão sumarizados nas Tabelas 1, 2, 3 e 4.

As espécies dos gêneros *Glomus* e *Gigaspora* têm sido as mais estudadas e os resultados das

Tabela 1 - Efeito de três espécies de fungos micorrízicos sobre o crescimento (AP) de plantas de dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Cojuma-tlan Roxa (CR).

FMVA	Altura (cm)		Médias
	PD	CR	
<i>A. scrobiculata</i>	29,5	29,8	29,6 a
<i>G. leptotichum</i>	25,6	29,5	27,5 a
<i>G. heterogama</i>	10,1	12,9	11,5 b
Testemunha	8,4	8,8	8,6 c
Médias	18,4 a	20,2 b	

C.V. = 8,51%

Médias de FMVA e de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Tabela 2 - Efeito de três espécies de FMVA sobre a produção de matéria seca da parte aérea (MA) de dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Cojumatlan Roxa (CR).

FMVA	MA (g)		Médias
	PD	CR	
<i>G. leptotichum</i>	1,16	1,45	1,30 a
<i>A. scrobiculata</i>	1,19	1,28	1,23 a
<i>G. heterogama</i>	0,19	0,27	0,23 b
Testemunha	0,13	0,12	0,12 b
Médias	0,67 a	0,78 b	

C.V. = 17,33%

Médias de FMVA e de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Tabela 3 - Efeito de três espécies de FMVA sobre a produção de matéria seca de raízes (MR) de dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Cojumatlan Roxa (CR).

FMVA	MR (g)		Médias
	PD	CR	
<i>G. leptotichum</i>	0,38	0,40	0,39 a
<i>A. scrobiculata</i>	0,39	0,34	0,36 a
<i>G. heterogama</i>	0,11	0,08	0,09 b
Testemunha	0,09	0,03	0,06 b
Médias	0,24 a	0,21 a	

C.V. = 22,96%

Médias de FMVA e de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Tabela 4 - Porcentagem de infecção micorrízica (IM) em raízes de dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Cojumatlan Roxa (CR), inoculadas com três espécies de FMVA.

FMVA	% de infecção		Médias
	PD	CR	
<i>G. leptotichum</i>	83,79	83,46	83,63 a
<i>A. scrobiculata</i>	74,22	82,70	78,46 a
<i>G. heterogama</i>	34,15	36,72	35,43 b
Testemunha	-	-	-
Médias	64,05a	67,63a	

C.V. = 13,37%

Médias de FMVA e de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

pesquisas de SANDERS *et alii* (1977), GRADA-YAUTENTZI & VALDÉS (1979), MANJUNATH & BAGYARAJ (1981) e POWELL *et alii* (1982) confirmam a superioridade do gênero *Glomus* quanto à eficiência sobre plantas de cebola. Esse melhor desempenho foi avaliado através de diversos parâmetros: comprimento das raízes, quantidade de P absorvido, quantidade de micélio externo, matéria fresca da parte aérea e das raízes, matéria seca dos bulbos, AP, MA e IM.

Os dados com esse experimento corroboram os da literatura e demonstram, mais uma vez, que a cebola é uma espécie dependente da simbiose micorrízica para o seu desenvolvimento.

4.2. Experimento .II - Eficiência de FMVA em tomateiro

De acordo com os resultados contidos na Tabela 5, nota-se que, da avaliação da AP, somente *G. leptotichum* teve um efeito significativo, enquanto que *A. scrobiculata* e *G. heterogama* não diferiram do controle sem micorriza. Os níveis de IM produzidos por *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* não foram diferentes entre si, estatisticamente, e ficaram muito acima dos de *G. heterogama*. Por outro lado, não se detectaram diferenças significativas no MA e no MR ao se comparar os fungos entre si e com a testemunha.

Ao contrário do que ocorreu com cebola, não se verificou interação entre os FMVA e o hospedeiro que resultasse num maior desenvolvimento das plantas apesar do

Tabela 5 - Efeito de três espécies de FMVA sobre a altura das plantas (AP), matéria seca da parte aérea (MA) e das raízes (MR) e infecção micorrízica (IM), do cultivar Santa Cruz Kada.

FMVA	AP (cm)	MA (g)	MR (g)	IM (%)
<i>G. leptotichum</i>	77,9 a	5,11 a	0,73 a	53,7 a
<i>A. scrobiculata</i>	72,4 ab	4,81 a	0,69 a	51,7 a
<i>G. heterogama</i>	71,2 ab	4,87 a	0,70 a	18,7 b
Testemunha	68,4 b	4,02 a	0,62 a	-
C.V.(%)	7,13	17,24	19,93	14,82

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

elevado nível de IM detectado (Tabela 5).

Utilizando os mesmos gêneros mas não as mesmas espécies de fungos micorrízicos, FAIRWEATHER & PARBERY (1982) obtiveram resultados diferentes. Todas as plântulas inoculadas com *Acaulospora laevis* tiveram um desenvolvimento muito lento nas primeiras quatro semanas; após esse período, as folhas de algumas plantas começaram a apresentar sintomas de ligeira necrose, enrolamento e eventual necrose do tecido, esta última sugerindo toxidez por excesso de amônio e manganês. Por outro lado, apareceram sintomas típicos de deficiência de P, apesar da adubação semanal com 15 ml/vaso da solução nutritiva 2 de Hoagland, preparada com metade da concentração dos nutrientes. Esse quadro não foi observado no presente experimento, em relação a *A. scrobiculata*. E, ao contrário do que foi obtido com *G. heterogama*, no experimento ora em discussão, plantas inoculadas com *G. margarita* tiveram produção 13, 10 e 12 vezes maiores que o controle, respectivamente para MR, MA e matéria seca total; o nível de IM também foi superior ao de *A. laevis*. Esses resultados mostram a ocorrência de variabilidade interespecífica nos FMVA. MCGRAW & SCHENCK (1980) testaram cinco espécies do gênero *Glomus* em tomate e obtiveram resultados contrastantes: os valores obtidos para AP e MA foram menores ou não diferiram da testemunha sem micorriza; no entanto, plantas inoculadas com *G. fasciculatus*, *G. etunicatus* e *G. mosseae* floresceram e produziram frutos antes da testemunha sem micorriza; a média de produção, em Kg/planta, foi 200 a 300% maior do que a do controle.

Vários fatores adicionais ou combinações desses fatores podem ser responsáveis pelas diferentes respostas obtidas para o desenvolvimento de plantas de cebola e tomateiro inoculadas com FMVA, nos Experimentos I e II, respectivamente: níveis de P disponível no solo, morfologia do sistema radicular, tipo de solo, variabilidade das espécies micorrízicas e hospedeiras, condições ambientais, especificidade fungo-hospedeiro, alterações fisiológicas e bioquímicas. A maior parte dos autores de trabalhos com FMVA entre eles DAFT & NICOLSON (1966) e SMITH *et alii* (1986b), sustenta que altas concentrações de P no solo inibem o processo de infecção dos fungos, fazendo com que os mesmos deixem de absorvê-lo e também a outros nutrientes. NELSEN & SAFIR (1982b), por sua vez, verificaram que a infecção por *G. etunicatus* em plantas de cebola independeu do nível de P. Este, porém, afetou a reprodução do fungo. POWELL *et alii* (1982) estudaram o efeito de seis espécies micorrízicas sobre quatro cultivares de cebola; não encontraram diferenças no desenvolvimento e na absorção de P tanto sob alta (96 $\mu\text{g/ml}$) como baixa

(16 ug/ml) concentração desse nutriente no solo de plantio e adubação de cobertura com NPK equivalente a 50, 88 e 212 Kg/ha, respectivamente. SCHUBERT & HAYMAN (1986) testaram a eficiência de vários FMVA sob diferentes níveis de P em cebola e observaram uma interação significativa entre endófitos e concentração do nutriente.

No presente trabalho, e em vários dos que aqui já foram discutidos, o desenvolvimento de plantas micorrizadas de tomate, em solo com baixo teor de P, foi negativo ou nulo em relação à testemunha. Foram observados sinais claros de deficiência nutricional; mesmo com a adição de solução nutritiva, semanalmente, esse estado não se modificou ou, melhorou, mas não o suficiente para diferir do controle. Depreende-se desses resultados, e do próprio sistema de cultivo do tomateiro, que essa espécie é dependente de uma excelente condição nutricional do solo para que exiba todo o seu potencial de desenvolvimento. Em vista disso, a quantidade de P que será carregado para a planta micorrizada, em solo deficiente desse elemento, não suprirá as necessidades do hospe-

deiro a não ser que a interação seja altamente eficiente. O mesmo não ocorreu com a cebola, cujas plantas micorrizadas tiveram um crescimento muitas vezes superior ao do controle, em solo contendo 3,09 ppm de P e sem adubação posterior. Esses resultados podem ser observados e comparados nas Tabelas 1, 2, 3 e 5.

BAYLIS (1972, 1975) desenvolveu a teoria de que a eficiência micorrízica varia com o tipo de sistema radicular; plantas portadoras de raízes grossas e com poucos pêlos radiculares são mais dependentes de micorrização do que aquelas com raízes finas e pêlos absorventes em abundância. MCGRAW & SCHENCK (1980) obtiveram resultados opostos a essa teoria; raízes micorrizadas de pêsego, que são finas, promoveram maior desenvolvimento das plantas do que as de podocarpo, que são grossas. No presente trabalho, os resultados concordaram em parte com a hipótese de Baylis. As plantas de cebola, cujo sistema radicular é formado por raízes finas e com poucos pêlos, respondeu positivamente à inoculação micorrízica; com relação às plantas de tomate, que também apresentam raízes finas porém com uma grande quantidade de pêlos, os resultados não foram significativos. Assim, é possível supor que a eficiência micorrízica esteja mais na dependência do número de pêlos absorventes do que da espessura da raiz.

A variabilidade do fungo micorrízico e do hospedeiro é outra causa de variação na eficiência da sim-

biose sobre o desenvolvimento de plantas. Um mesmo endófito é capaz de infectar um espectro muito amplo de espécies vegetais, porém, os resultados podem variar quando diferentes endófitos são inoculados numa mesma espécie hospedeira. Essas características puderam ser observadas nos Experimentos I e II, onde a eficiência de três espécies micorrízicas foram testadas em cebola e tomate. Apesar de ter infectado as raízes das plantas de cebola, o desempenho de *G. heterogama* foi muito inferior aos de *G. leptotichum* e *A. scrobiculata*, quanto ao desenvolvimento das plantas. No entanto, praticamente não diferiu das mesmas quando inoculada no tomateiro (Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5). Assim, houve também variabilidade interespecífica entre cebola e tomate diante dos mesmos FMVA. Não se pode afirmar, entretanto, que exista especificidade hospedeiro-fungo micorrízico; além de sua ampla distribuição no reino vegetal, as micorrizas estão geograficamente onipresentes. Dessa forma a condição micorrízica é uma regra e a especificidade endófito-hospedeiro é mínima e normalmente não observada. Resultados similares foram obtidos por SANDERS *et alii* (1977) e GRADA-YAUTENTZI & VALDÉS (1979) em cebola e por MCGRAW & SCHENCK (1980) em tomate, citros, crisântemo, pêssago e podocarpo, e FAIRWEATHER & PARBERY (1982) em tomate. POWELL *et alii* (1982)

testaram vários fungos selecionados, além de fungos nativos, e estes mostraram-se os menos efetivos. Respostas diferentes de cultivares de uma mesma espécie a um endófito foram relatadas por Metcalf¹², citado por OCAMPO (1980b), com algodão e *G. fasciculatus*. No Experimento I os cultivares de cebola Pira Dura e Cojumatlan Roxa mostraram diferenças entre si, estatisticamente significativas, para os parâmetros AP e MA, (Tabelas 1 e 2) e não significativas para MR e IM (Tabelas 3 e 4). Tais resultados mostraram-se inconclusivos e não permitem afirmar se houve ou não variabilidade intraespecífica.

A quantidade de infecção nem sempre está relacionada com eficiência. No Experimento II a IM de *G. leptotichum* e *A. scrobiculata*, em plantas de tomate, foi muito boa (Tabela 5). Porém, o efeito sobre o desenvolvimento, medido por AP, MA e MR, não diferiu daquele obtido com o controle sem os FMVA, com exceção de AP para *G. leptotichum* (Tabela 5). Segundo JACKSON *et alii* (1972), RICH & BIRD (1974) e SANDERS *et alii* (1977), uma rápida infecção, posição do inóculo e quantidade e localização das hifas externas podem ser os fatores preponderantes que regulam a eficiência dos isolados.

¹²METCALF, S.M. Effects of infection by *Glomus fasciculatus* of different strain of cotton. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 3., Athens, 1977. Abstract. Athens, Institute for Mycorrhizal Research Development, 1977.83p.

Alterações fisiológicas e bioquímicas, provavelmente governadas por genes específicos, também fazem parte do processo micorrízico. MCGRAW & SCHENCK (1980) observaram senescência prematura de plantas de tomate e de crisântemo micorrizadas, indicando um desbalanço hormonal causado, provavelmente, pela simbiose.

Além dos fatores já discutidos, o tipo de solo e condições ambientais como pH, umidade, luz e temperatura também interferem nessa eficiência.

4.3. Experimento III - Reação de cebola à inoculação simultânea de FMVA e de *P. terrestris*.

Os resultados obtidos para AP, MA e MR mostraram que a inoculação simultânea dos FMVA *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* e de *P. terrestris* não permitiu que as micorrizas exercessem um efeito antagônico sobre o patógeno (Tabelas 6, 7, 8). A AP (Tabela 6) inoculada com os fungos micorrízicos e com o patógeno não diferiu do controle contendo somente o patógeno e foi menor do que as testemunhas inoculadas apenas com os FMVA. Os resultados de MA e MR não diferiram entre si para quaisquer dos tratamentos embora diferenças razoáveis entre alguns deles tivessem ocorrido. Uma possível explicação para esses resultados está relacionada com uma grande interferência de fatores ambientais e com o pequeno número de repetições, pois os coeficientes de varia-

Tabela 6 - Reação de cebola à inoculação simultânea de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através do crescimento (AP) de plantas de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	AP (cm)		Médias
	PD	RB	
Testemunha	40,33 a	46,33 a	43,33
<i>G. leptotichum</i>	39,67 a	46,33 a	43,00
<i>A. scrobiculata</i>	40,33 a	37,33 b	38,83
<i>P. terrestris</i>	33,67 b	37,67 b	35,67
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	33,00 b	35,33 b	34,16
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	32,00 b	34,33 b	33,16
Médias	36,50 A	39,55 B	

C.V. = 5,54%

Médias de cultivares e médias de tratamentos dentro do fator cultivar seguidas de mesma letra, não diferem entre si, estatisticamente (Tukey 5%).

Tabela 7 - Reação de cebola à inoculação simultânea de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através da produção de matéria seca da parte aérea (MA) em plantas de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	MA (g)		Médias
	PD	RB	
Testemunha	5,98 a	11,33 a	8,65
<i>G. leptotichum</i>	3,50 a	9,85 a	6,67
<i>P. terrestris</i>	2,38 a	8,41 ab	5,39
<i>A. scrobiculata</i>	4,86 a	8,27 ab	6,56
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	3,85 a	6,24 ab	5,04
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	7,26 a	4,07 b	5,66
Médias	4,64 A	8,03 B	

C.V. = 32,87%

Médias de cultivares e médias de tratamentos dentro do fator cultivar seguidas de mesma letra, não diferem entre si, estatisticamente (Tukey 5%).

Tabela 8 - Reação de cebola à inoculação simultânea de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através da produção de matéria seca das raízes (MR) de plantas de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	MR (g)		Médias
	PD	RB	
Testemunha	3,20 a	3,59 a	3,39
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	2,39 a	3,19 a	2,79
<i>A. scrobiculata</i>	1,69 a	3,73 a	2,71
<i>P. terrestris</i>	2,06 a	2,38 a	2,22
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	1,98 a	2,33 a	2,15
<i>G. leptotichum</i>	1,30 a	2,60 a	1,95
Médias	2,10 A	2,97 B	

C.V. = 36,89%

Médias de cultivares e médias de tratamentos dentro do fator cultivar seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

ção de ambos os parâmetros foram muito altos (Tabelas 7 e 8). Os resultados do IIN (Tabela 9) discordam, em parte, com aqueles das demais avaliações. Plantas inoculadas com *A. scrobiculata* mais *P. terrestris* mostraram um IIN superior ao do controle com *P. terrestris*. Para *G. leptotichum* mais *P. terrestris*, por sua vez, o IIN foi significativamente menor no cultivar Pira Dura e não diferiu da testemunha no cultivar Roxa do Barreiro. CARON *et alii* (1986b) estudaram o efeito da seqüência de inoculação de *G. intraradicis* e de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sobre plantas de tomate; verificaram que, mesmo sob inoculação simultânea de ambos os microrganismos, houve redução da podridão radicular e da população de *Fusarium*. A avaliação do IIN do experimento, ora em discussão, pode ter sido prejudicada por possíveis perdas de raízes com sintomas de raiz rosada durante a lavagem para retirada do solo. Para que esse parâmetro fosse válido as raízes deveriam ter sido avaliadas no estágio de plântula quando ocorrem em pequeno número e aquelas com sintomas de raiz rosada ainda não estão muito danificadas.

O processo de infecção micorrízica também pode ter sido inibido pelo alto teor de P (95 ppm) no solo, embora não se tenha feito qualquer tipo de adubação no transcorrer do experimento.

Tabela 9 - Reação de *P. terrestris*, avaliada através do Índice de Infecção por Notas (IIN), em dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB) inoculados simultaneamente com três espécies de FMVA.

Tratamentos	IIN médio		Médias
	PD	RB	
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	2,98 a	2,53 a	2,75
<i>P. terrestris</i>	2,22 b	1,07 b	1,64
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	1,00 c	1,00 b	1,00
Médias	2,07 A	1,53 B	

C.V. = 18,77%

Médias de cultivares e médias de tratamento dentro do fator cultivar seguidas de mesma letra não diferem entre si, estatisticamente (Tukey 5%).

4.4. Experimento IV - Reação de cebola à inoculação de FMVA e de *P. terrestris*

A avaliação do desenvolvimento das plantas através dos parâmetros AP, MA e MR pode ser analisada pelas Tabelas 10, 11 e 12. Os tratamentos contendo os FMVA mais *P. terrestris* não diferiram daqueles inoculados apenas com os respectivos FMVA; mas mostraram valores 7, 5 e 3 vezes maiores que o controle com *P. terrestris*, respectivamente, para *G. leptotichum* mais *P. terrestris*, *A. scrobiculata* mais *P. terrestris* e *G. heterogama* mais *P. terrestris*. Por outro lado, o desenvolvimento das plantas inoculadas apenas com *P. terrestris* também não diferiu daquele obtido pelas plantas sem nenhum microrganismo.

Com base nos resultados acima, não se pode inferir que tenha havido interação entre FMVA - cebola - *P. terrestris* no sentido de uma ação antagônica das MVA sobre o patógeno. Essa afirmação seria verdadeira se o desenvolvimento da testemunha não inoculada tivesse sido diferente da testemunha inoculada com *P. terrestris*.

Algumas comparações podem ser feitas entre os resultados do experimento ora em discussão com aqueles obtidos por SAFIR (1968), em seu trabalho pioneiro sobre a interação FMVA - hospedeiro - patógeno. Tais comparações referem-se particularmente ao seu primeiro experimento, de uma série de três que foram conduzidos. Os dados de AP, MA e MR.

Tabela 10.- Reação de cebola à inoculação de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através do crescimento (AP) de plantas de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	AP (cm)		Médias
	PD	RB	
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	42,10 a	39,48 a	40,79
<i>G. leptotichum</i>	40,46 a	39,75 a	40,11
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	38,67 a	35,23 b	36,95
<i>A. scrobiculata</i>	32,27 b	35,58 b	33,92
<i>G. heterogama</i>	26,30 c	27,22 c	26,76
<i>G. heterogama</i> + <i>P. terrestris</i>	25,65 c	24,20 c	24,92
<i>P. terrestris</i>	7,25 d	7,73 d	7,49
Testemunha	6,88 d	7,23 d	7,05
Médias	27,45 A	27,05 A	

C.V. = 9,25%

Médias de cultivares e médias de tratamentos dentro do fator cultivar seguidas de mesma letra não diferem entre si, estatisticamente (Tukey 5%).

Tabela 11 - Reação de cebola à inoculação de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através da produção de matéria seca da parte aérea (MA) em plantas de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	MA (g)		Médias
	PD	RB	
<i>G. leptotichum</i>	2,27 a	2,06 a	2,16
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	2,16 a	1,98 a	2,07
<i>A. scrobiculata</i>	1,33 b	1,15 b	1,24
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	1,29 b	0,98 bc	1,13
<i>G. heterogama</i>	0,93 c	0,78 c	0,86
<i>G. heterogama</i> + <i>P. terrestris</i>	0,86 c	0,41 d	0,64
Testemunha	0,08 d	0,07 e	0,07
<i>P. terrestris</i>	0,06 d	0,07 e	0,06
Médias	1,12 A	0,94 B	

C.V. = 20,35%

Médias de cultivares e médias de tratamentos dentro do fator cultivar seguidas de mesma letra não diferem entre si, estatisticamente (Tukey 5%).

Tabela 12 - Reação de cebola à inoculação de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através da produção de matéria seca de raízes (MR) de plantas de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	MR (g)		Médias
	PD	RB	
<i>G. leptotichum</i>	1,12	1,02	1,07 A
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	0,94	0,91	0,92 B
<i>A. scrobiculata</i>	0,57	0,45	0,51 C
<i>G. heterogama</i>	0,52	0,43	0,48 C
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	0,44	0,37	0,41 CD
<i>G. heterogama</i> + <i>P. terrestris</i>	0,48	0,22	0,35 D
Testemunha	0,05	0,04	0,04 E
<i>P. terrestris</i>	0,05	0,04	0,04 E
Médias	0,52 A	0,43 B	

C.V. = 27,44%

Médias de tratamentos e médias de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

foram muito semelhantes aos de Peso da Matéria Fresca da Parte Aérea (PF); quanto à Porcentagem de Infecção Patogênica (IP), uma alta taxa foi detectada nas plantas não micorrizadas; no entanto, parece que a infecção não afetou o desenvolvimento pois o PF dessas plantas não diferiu daquelas sem nenhum microrganismo. Não dá para comparar esses resultados com aqueles referentes à Taxa de Infecção (Tabela 13) pois os métodos de avaliação não foram os mesmos. Baseando-se apenas nos dados da IP, Safir comparou-os com aqueles obtidos para Quantidade de Açúcares Redutores (AR) e sugeriu que o aumento do teor de açúcar em plantas micorrizadas e a incapacidade de sintetizá-lo naquelas não micorrizadas e subdesenvolvidas pode ter contribuído para reduzir a IP. Segundo HORTON & KEEN (1966) a quantidade de açúcares redutores está diretamente relacionada com o aumento da resistência a *P. terrestris*. Avaliando, com cuidado, os resultados da pesquisa de Safir verifica-se que não foram obtidos os teores de açúcar de plantas inoculadas com micorriza mais patógeno e daquelas só com o patógeno. A ausência desses dados dificultou a análise do trabalho e, talvez, por essa razão, o próprio autor tenha considerado inconclusivos os resultados da interação.

Não é possível supor que as raízes de cebola não tenham sido infectadas pelo patógeno, pois a Tabela 13 mostra a ocorrência de Taxa de Infecção bastante alta no controle inoculado com *P. terrestris*. Mas, uma suposição pode ser feita para tentar justificar os resultados obtidos com

Tabela 13 - Reação de cebola à inoculação de três espécies de FMVA e de *P. terrestris*, medida através da Taxa de Infecção do patógeno em raízes de dois cultivares, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB).

Tratamentos	Taxa de infecção (%)		Médias
	PD	RB	
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	63	61	62 a
<i>P. terrestris</i>	52	60	56 abb
<i>G. heterogama</i> + <i>P. terrestris</i>	39	52	45 abb
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	33	41	37 b
Médias	47a	53 a	

C.V. = 41,09%

Médias de tratamentos e médias de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

AP, MA e MR e também os de SAFIR (1968) para PF: o período decorrido entre a inoculação do patógeno e a avaliação, de 55 dias, permitiu que as raízes hospedeiras fossem infectadas porém não foi suficiente para afetar o desenvolvimento das plantas. De acordo com HANSEN (1929), à medida em que a doença progride, as raízes perdem a turgescência, adquirem um aspecto de semitransparência embebida com água; nesse estágio, a camada epidérmica e os elementos vasculares podem ser facilmente separados. Na parte aérea, os sinais incluem estiolamento, flacidez, murcha e morte a partir da ponta da folha. Esses sintomas não foram observados nas plantas do presente experimento, mas somente uma coloração rosada. Segundo WATSON (1961), a simples presença dessa cor nas raízes nem sempre é um critério definitivo para a determinação do patógeno. Entretanto, durante a avaliação da infecção micorrízica, do experimento ora em questão, segmentos de raízes de cada parcela foram observados detalhadamente ao microscópio. Verificou-se que todas as raízes analisadas continham estruturas de ambos os fungos, simbiote e patogênico. Tais estruturas foram distinguidas pela ausência e pela presença de septos nas hifas, respectivamente, dos fungos micorrízicos e de *P. terrestris*. As mesmas observações foram feitas por SAFIR (1968).

Realmente, os prejuízos causados por raiz rosada são traduzidos por uma redução no tamanho, na qua-

lidade e na produção de bulbos (PERRY & JONES, 1955). Ou seja, numa fase bem avançada do desenvolvimento das plantas, a qual não chegou a ser atingida no presente trabalho.

Os resultados da Taxa de Infecção por *P. terrestris* nos tratamentos micorrizados não diferiram estatisticamente da testemunha inoculada com o patógeno (Tabela 13). Apesar disso, as diferenças entre plantas inoculadas com *P. terrestris* e aquelas inoculadas com *G. leptotichum* mais *P. terrestris* e *G. heterogama* mais *P. terrestris* foram bastante altas. Interferências de fatores ambientais devem ter contribuído para a não significância pois o coeficiente de variação foi extremamente alto.

Quanto à IM (Tabela 14) também não foram detectadas diferenças significativas entre as porcentagens de infecção nos tratamentos inoculados com os FMVA mais *P. terrestris* e aqueles contendo somente os FMVA.

Resultados interessantes foram obtidos com relação à Taxa de Esporulação (Tabela 15). Os FMVA produziram maior número de esporos na presença do que na ausência do patógeno, apesar das diferenças não terem sido significativas na maior parte dos tratamentos. A presença de *P. terrestris* pode ter induzido os fungos micorrízicos a se reproduzirem com maior rapidez como resposta à competição por espaço.

Tabela 14 - Porcentagem de infecção micorrízica (IM) em raízes de dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB), inoculadas com três espécies de FMVA e com *P. terrestris*.

Tratamentos	IM (%)		Médias
	PD	RB	
<i>G. leptotichum</i>	69,50	69,70	69,60 a
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	69,00	68,70	68,85 a
<i>A. scrobiculata</i>	69,20	60,00	64,60 a
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	69,20	59,70	64,45 a
<i>G. heterogama</i>	51,50	51,70	51,60 b
<i>G. heterogama</i> + <i>P. terrestris</i>	47,70	48,00	47,85 b
Médias	62,68 a	59,63 a	

C.V. = 7,03%

Médias de tratamentos e médias de cultivares seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Tabela 15 - Taxa de esporulação (TE) de três espécies de FMVA em solo cultivado com dois cultivares de cebola, Pira Dura (PD) e Roxa do Barreiro (RB), inoculados com *P. terrestris*.

Tratamentos	TE (esporos/100ml de solo)		Médias
	PD	RB	
<i>A. scrobiculata</i> + <i>P. terrestris</i>	1341 a	949 a	1145
<i>A. scrobiculata</i>	277 b	857 ab	567
<i>G. leptotichum</i> + <i>P. terrestris</i>	464 bc	389 bc	426
<i>G. leptotichum</i>	123 cd	208 cd	165
<i>G. heterogama</i> + <i>P. terrestris</i>	34 d	35 de	34
<i>G. heterogama</i>	21 d	23 e	22
Médias	377 a	410 a	

C.V. = 21,54%

Médias de cultivares e médias de tratamentos dentro do fator cultivar, seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

4.5. Experimento V - Reação do tomateiro à inoculação de FMVA e de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

A análise estatística de AP e MA (Tabela 16) revelou que o desenvolvimento das plantas inoculadas com os FMVA e com o patógeno não diferiu do controle inoculado apenas com *Fusarium*. Esses mesmos tratamentos, por sua vez, mostraram-se inferiores aqueles inoculados somente com os FMVA. Quanto aos resultados de MR, GF e IM (Tabela 16), não houve interação significativa para quaisquer dos tratamentos relacionados entre si. A partir dos resultados obtidos verifica-se que não ocorreu interação positiva entre FMVA - tomateiro - *Fusarium* no sentido de diminuir a incidência do patógeno. O que se observou foi uma ausência de interação, pois a presença dos endófitos não aumentou nem diminuiu o parasitismo. Observa-se que o nível de IM não se alterou mesmo na presença do patógeno; portanto, como já foi discutido no Experimento II, a infecção radicular, por si só, não configura um quadro de controle da doença.

Os trabalhos revisados que tratam da interação entre FMVA - tomateiro - patógenosdo solo relatam, em sua maior parte, um efeito antagônico dos FMVA sobre o patógeno (DEHNE & SCHONBECK, 1975, 1979a; SCHONBECK, 1978; BAGYARAJ *et alii*, 1979; HALOS & ZORILLA, 1979; SITARAMAIAH & SIKORA, 1982; SURESH *et alii*, 1985; CARON *et alii*, 1985, 1986a, b, c; GRANDISON & COOPER, 1986). No entanto, McGRAW

Tabela 16 - Reação do tomateiro à inoculação de três espécies de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, medida através do crescimento (AP), das produções de matéria seca da parte aérea (MA) e de raízes (MR), grau de fusariose (GF) e porcentagem de infecção micorrizica (IM) de plantas do cultivar Santa Cruz Kada.

Tratamentos	AP (cm)	MA (g)	MR (g)	GF (notas)	IM (%)
<i>G. leptotrichum</i>	60 a	6,36 a	0,95 a	-	50,5 a
<i>G. heterogama</i>	57 a	5,88 a	0,94 a	-	19,0 b
Testemunha	57 ab	5,35 bc	0,84 ab	-	-
<i>A. scrobiculata</i>	60 abc	6,31 ab	0,83 ab	-	48,0 a
<i>G. heterogama</i> + <i>Fusarium</i>	52 bcd	3,85 de	0,81 ab	74 a	19,2 b
<i>G. leptotrichum</i> + <i>Fusarium</i>	52 bcd	4,54 cd	0,79 ab	66 a	50,0 a
<i>Fusarium</i>	52 cd	4,21 de	0,75 b	72 a	-
<i>A. scrobiculata</i> + <i>Fusarium</i>	49 d	3,38 e	0,72 b	87 a	42,7 a
C.V. (%)	7,11	13,08	10,07	17,96	14,62

Médias de tratamentos seguidas de mesma letra não diferem entre si, estatisticamente (Tukey 5%).

& SCHENCK (1981) observaram um aumento da incidência de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sobre as plantas. O aumento independeu das espécies micorrízicas utilizadas, se *G. etunicatus* ou *G. mosseae*, se na fase de semente ou de plântula e da concentração do inóculo micorrízico. Os sintomas característicos de fusariose, traduzidos por clorose e murcha, surgiram primeiro nas plantas micorrizadas. A exemplo do que foi obtido no presente experimento, BAATH & HAYMAN (1983) verificaram que a simbiose micorrízica não afetou a severidade da murcha de *Verticillium* em tomate; e que a absorção de P em plantas micorrizadas não diferiu daquelas sem micorriza. SELMAN & PEGG (1957) notaram que, em plantas atacadas por *Verticillium* houve uma queda na eficiência fotossintética das folhas. Com base nesses resultados BAATH & HAYMAN (1983) sugeriram a hipótese de que, sob a ação do patógeno, menor quantidade de fotossintetizados seria transportada para as raízes e liberada para o solo. Conseqüentemente, ocorreria uma menor IM pois, segundo RATNAYAKE *et alii* (1978), a extensão da infecção micorrízica parece ser governada pela taxa de exsudatos radiculares. Assim, uma diminuição na IM levaria a um aumento da doença.

No presente experimento não houve redução significativa da IM nas plantas contendo o patógeno quando se comparou com os tratamentos inoculados somente com micorriza. A hipótese de BAATH & HAYMAN (1983) poderia ser aplicada para esse caso pois *Fusarium* também é um patógeno

do sistema vascular, a exemplo de *Verticillium* e ambos exibem síndrome semelhante. Como não houve diminuição da IM, a incidência de *Fusarium* não chegou a ser maior do que nas plantas apenas com o patógeno.

DAVIS *et alii* (1979) detectaram aumento da incidência de murcha de *Verticillium* em plantas de algodão micorrizadas. Atribuíram o resultado ao melhor estado nutricional das plantas, resultante da maior absorção de P, pois dados semelhantes foram obtidos após adubação fosfatada. Se a interação micorrízica estudada no Experimento II tivesse sido eficiente, ou seja, redundasse em maior absorção de P para a planta, a hipótese de DAVIS *et alii* (1979) também explicaria os resultados.

Um outro fator que pode ter prejudicado o efeito antagonista das MVA está relacionado com a alta concentração de inóculo patogênico utilizada. Foram aplicados 1×10^7 esporos de *Fusarium* contra 500 esporos micorrízicos/planta. O inóculo micorrízico foi aplicado 40 dias antes, tempo suficiente para que pudesse se estabelecer e se reproduzir mas não para que pudesse atingir a mesma concentração de esporos do patógeno. DEHNE & SCHONBECK (1979) testaram o efeito de duas concentrações de inóculo de *Fusarium*, 50×10^6 e 200×10^6 conídios/vaso, sobre plantas de tomate micorrizadas com *G. mosseae*. O parâmetro de avaliação foi a quantidade de micélio do parasita no caule, medido através do teor de glucosamina. Na concentração mais

elevada, o teor de glucosamina obtido de plantas micorrizadas foi 150% maior que na concentração mais baixa de esporos, contra 30% naquelas sem micorriza. Os resultados mostraram que o aumento da concentração patogênica provocou uma redução do efeito benéfico da micorriza e, como consequência, menor controle de *Fusarium*.

Os resultados obtidos com o trabalho de pesquisa aqui discutido demonstram, claramente, a necessidade de mais estudos relacionados com a interação micorriza - hospedeiro - patógeno. É preciso que as pesquisas futuras sejam voltadas principalmente para o aspecto fisiológico e bioquímico, de tal forma que possam preencher as lacunas abertas sobre os mecanismos de resistência dessa interação. Desses conhecimentos é que surgirão respostas esclarecedoras sobre resultados aparentemente conflitantes.

Mais pesquisas se fazem necessárias, também, no sentido de identificar e selecionar espécies de fungos micorrízicos que sejam eficientes em controlar a incidência de fitopatógenos e que, ao mesmo tempo, promovam um bom desenvolvimento da planta.

Da experiência adquirida com esse trabalho, fica a sugestão para que os estudos com esse tipo de interação sejam sempre levados até a fase de produção. Dessa forma resultados bem mais consistentes poderão ser obtidos.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o presente trabalho de pesquisa permitem tirar as seguintes conclusões:

1. Os fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (FMVA) *G. leptotichum* e *A. scrobiculata* não diferiram entre si e mostraram-se altamente eficientes em promover o desenvolvimento de plantas de cebola. Os valores obtidos para Altura das Plantas (AP), Matéria Seca da Parte Aérea (MA) e Matéria Seca das Raízes (MR) foram, respectivamente, 3, 10 e 6 vezes maiores que o da testemunha sem micorriza. Por sua vez, *G. heterogama* não teve efeito sobre o crescimento das plantas.

2. *G. leptotichum*, *A. scrobiculata* e *G. heterogama* não tiveram efeito sobre o desenvolvimento de plantas de tomate, apesar dos bons níveis de infecção micorrízica (IM) detectados nas raízes micorrizadas com os dois primeiros fungos. Os resultados de AP, MA e MR das plantas micorrizadas, de modo geral, não diferiram daqueles obtidos com o controle sem micorriza.

3. Na inoculação simultânea dos FMVA *G. leptotiohum* e *A. scrobiculata* e de *P. terrestris* em plantas de cebola o fungo patogênico não induziu a incidência mensurável de raiz rosada.

4. Não foi constatada interação entre FMVA, inoculados previamente ao patógeno, plantas de cebola e *P. terrestris*, no período de 55 dias entre a inoculação do patógeno e a avaliação dos resultados.

5. Não houve interação entre FMVA, inoculados previamente ao patógeno, plantas de tomate e *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

6. Não foram observadas relações de especificidade entre FMVA e hospedeiros.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, M.F.; SMITH, W.K.; MOORE, S.M.; CHRISTENSEN, M.

Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*.

New Phytologist, Oxford, 88: 683-693, 1981.

ALLISON, C.C. & PHYLLIPS, D.V. *In vivo* selection of biotypes

of *Cephalosporium* inhibitory to the development of tomato

and cotton *Fusarium* wilt symptoms. Phytopathology, St.

Paul, 53: 869, 1963. (Abstr.).

ANWAR, A.A. Factors affecting the survival of *Helminthosporium*

sativum and *Fusarium lini* in soil. Phytopathology, St.

Paul, 39: 1005-1019, 1949.

ATILANO, R.A.; RICH, J.R.; FERRIS, H.; MENGE, J.A. Effect of

Meloidogyne arenaria on endomycorrhizal grape (*Vitis*

vinifera) rootings. J. Nematology, Lawrence, 8: 278,

1976. (Abstr.).

AZCON, R.; MARTIN, A.D.; BAREA, J.M. Comparative role of

phosphate in soil or in the host on the formation and

effects of endomycorrhiza. Plant and Soil, The Hague,

49: 561-567, 1978.

- BAATH, E. & HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: XIV. Interactions with *Verticillium* wilt on tomato plants. New Phytologist, Oxford, 95: 419-426, 1983.
- BAGYARAJ, D.J. Biological interactions with VA mycorrhizal fungi. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J., ed. VA Mycorrhiza. Boca Raton, Florida, 1984. cap. 7, p. 131-153.
- BAGYARAJ, D.J.; MANJUNATH, A.; REDDY, D.D.R. Interaction of vesicular-arbuscular micorrhiza with root-knot nematode in tomato. Plant and Soil, The Hague, 51: 397-403, 1979.
- BALTRUSCHAT, H. & SCHONBECK, F. Influence of endotrophic mycorrhiza on chlamydospore production of *Thielaviopsis basicola* in tobacco roots. Phytopath. Z., Berlim, 74: 358-361, 1972.
- BALTRUSCHAT, H. & SCHONBECK, F. The influence of endotrophic mycorrhiza on the infestation of tobacco by *Thielaviopsis basicola*. Phytopath. Z., Berlim, 84: 172-188, 1975.
- BAYLIS, G.T.S. Minimum levels of phosphorus for non-mycorrhizal plants. Plant and Soil, The Hague, 36: 233-234, 1972.
- BAYLIS, G.T.S. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 373-389.

BECKER, W.N. Quantification of onion vesicular-arbuscular mycorrhizae and their resistance to *Pyrenochaeta terrestris*. Urbana, 1976. 72 p. (Ph.D Dissertation - Univ. Illinois).

BECKER, W.N. & GERDEMANN, J.W. The resistance of vesicular-arbuscular onion mycorrhizae to *Pyrenochaeta terrestris*. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 3., Athens, 1977. Abstract. Athens, Institute for Mycorrhizal Research Development, 1977. 4 p.

BEVEGE, D.I.; BOWEN, G.D.; SKINNER, M.F. Comparative carbohydrate physiology of ecto- and endo-mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B. ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 149-154.

BIELESKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, 24: 225-252, 1973.

BOWEN, C.D.; BEVEGE, D.I.; MOSSE, B. Phosphate physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 241-260.

BUWALDA, J.G.; ROSS, G.J.S.; STRIBLEY, D.B.; TINKER, P.B.

The development of endomycorrhizal root systems: IV.

The mathematical analysis of effects of phosphorus on the spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in root systems. New Phytologist, Oxford, 92: 391-399, 1982.

CARDOSO, E.J.B.N. Contribuição ao estudo do controle biológico da murcha de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*

(Schlecht) Kendr. e Snyd. em *Phaseolus vulgaris* L.

Piracicaba, 1968. 58 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

CARON, M.; FORTIN, J.A.; RICHARD, C. Influence of substrate on the interaction of *Glomus intraradicis* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* on tomatoes. Plant and Soil, The Hague, 87: 233-239, 1985.

CARON, M.; FORTIN, J.A.; RICHARD, C. Effect of *Glomus intraradicis* on infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. Canadian journal of Botany, Ottawa, 64: 552-556, 1986a.

CARON, M.; FORTIN, J.A.; RICHARD, C. Effect of inoculation sequence on the interaction between *Glomus intraradicis* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes. Can. J. Plant Pathology, Ottawa, 8: 12-16, 1986b.

- CARON, M.; FORTIN, J.A.; RICHARD, C. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradicis* on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. Phytopathology, St. Paul, 76: 942-946, 1986c.
- CHOU, L.G. & SCHMITTHENNER, A.F. Effect of *Rhizobium japonicum* and *Endogone mosseae* on soybean root rot caused by *Pythium ultimum* and *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. Plant Disease Reporter, St. Paul, 58: 221-225, 1974.
- COOK, R.J. Biological control of plant pathogens: theory to application. Phytopathology, Lancaster, 75(1): 25-29, 1985.
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, Am. Phytopathological Society, 1983. 539 p.
- COOPER, K.M. & GRANDISON, G.S. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and root-knot nematode on cultivars of tomato and white clover susceptible to *Meloidogyne hapla*. Annals of Applied Biology, London, 108(3): 555-565, 1986.
- COUTEAUDIER, Y.; LETARD, M.; ALABOUVETTE, C.; LOUVET, J. Lutte biologique contre la fusariose vasculaire de la tomate. Resultats en serre production. Agronomie, Paris, 5(2): 151-156, 1985.

COX, G. & SANDERS, F.E. Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza.

New Phytologist, Oxford, 73: 901-912, 1974.

COX, G. & TINKER, P.B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas: I. The arbuscule and phosphorus transfer: A quantitative ultrastructural study. New Phytologist, Oxford, 77: 371-378, 1976.

DAFT, M.J. & NICOLSON, T.H. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. New Phytologist, Oxford, 65: 343-350, 1966.

DAFT, M.J. & NICOLSON, T.H. Effect of *Endogone* on plant growth: II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. New Phytologist, Oxford, 68: 945-952, 1969.

DAFT, M.J. & OKUSANYA, B.O. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth: V. Influence of infection on the multiplication of viruses in tomato, petunia and strawberry. New Phytologist, Oxford, 72: 975-983, 1973.

DAFT, M.J. & EL-GIAHMI, A.A. Effects of arbuscular mycorrhiza on plant growth: VIII. Effects of defoliation and light on selected hosts. New Phytologist, Oxford, 80: 365-372, 1978.

- DANIELS, B.A. & SKIPPER, H.D. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: SCHENCK, N.C., ed. Methods and principles of mycorrhizal research, St. Paul, 1982. cap. 3, p. 29-35.
- DAVIS, G.N. & HENDERSON, W.J. The interrelation of the pathogenicity of a *Phoma* and a *Fusarium* on onion. Phytopathology, Lancaster, 27: 763-772, 1937.
- DAVIS, R.M., MENGE, J.A.; ERWIN, D. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Verticillium* wilt of cotton. Phytopathology, St. Paul, 69: 453-456, 1979.
- DEHNE, H.W. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathology, St. Paul, 72(8): 1115-1119, 1982.
- DEHNE, H.W. & SCHONBECK, F. The influence of the endotrophic mycorrhiza on the fusarial wilt of tomato. Z. Pflanzenkr. & Pflanzensch., Stuttgart, 82: 630-632, 1975.
- DEHNE, H.W. & SCHONBECK, F. The influence of endotrophic mycorrhiza on plant disease: I. Colonization of tomato plants by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Phytopathol. Z., Berlim, 95: 105-110, 1979a.
- DEHNE, H.W. & SCHONBECK, F. The influence of endotrophic mycorrhiza on plant diseases: II. Phenolmetabolism and lignification. Phytopath. Z., Berlim, 95: 210-216, 1979b.

DUTTA, B.K. Studies on some fungi isolated from the rhizosphere of tomato plants and the consequent prospect for the control of *Verticillium* wilt. Plant and Soil, The Hague, 63: 209-216, 1981.

FAIRWEATHER, J.V. & PARBERY, D.G. Effects of four vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth of tomato. Trans. Brith. Mycol. Soc., Cambridge, 79(1): 151-153, 1982.

FITTER, A.H. Functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas under field conditions. New Phytologist, Oxford, 99: 257-265, 1985.

FOX, J.A. & SPASOFF, L. Interaction of *Heterodera solanacearum* and *Endogone gigantea* on tobacco. J. Nematology, Lawrence, 4: 224-225. (Abstr.).

FURLAN, V. & FORTIN, J.A. Effect of light intensity on the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora*. New Phytologist, Oxford, 79: 335-340, 1978.

GARRET, S.D. Toward biological control of soil-borne plant pathogens. In: BAKER, K.F. & SNIDER, W.C., ed. Ecology of soil-borne plant pathogens - Prelude to biological control. California. University of California Press, 1965. p. 4-17.

GAUNT, R.E. Inoculation of vesicular-arbuscular fungi on onion and tomato seeds. New Zealand J. of Botany, Wellington, 16: 69-71, 1973.

GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Brith. Myc. Soc., Cambridge, 46(2): 235-244, 1963.

GIANINAZZI-PEARSON, V. & GIANINAZZI, S. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza: II. Soluble alkaline phosphatase specific to mycorrhizal infection in onion roots. Physiol. Plant Pathology, New York, 12: 45-53, 1978.

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhiza infections in roots. New Phytologist, Oxford, 84: 489-500, 1980.

GORENZ, A.M.; WALKER, J.C.; LARSON, R.H. Morphology and taxonomy of the onion pink-root fungus. Phytopathology, Lancaster, 38: 831-840, 1948.

GORENZ, A.M.; LARSON, R.H.; WALKER, J.C. Factors affecting pathogenicity of pink root fungus of onions. Journal of Agric. Research, Washington, 78(1,2): 1-18, 1949.

- GRADA-YAUTENTZI, R.G. & VALDÉS, M. Desarrollo de micorriza vesículo-arbuscular en algunos cultivos. Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología, México, 13: 47-53, 1979.
- GRAY, L.E. & GERDEMANN, J.W. Uptake of phosphorus-32 by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and Soil, The Hague, 30: 415-421, 1969.
- GUNZE, C.M.B. & HENNESSEY, C.M.R. Effect of host-applied auxin on development of endomycorrhiza in cowpeas. Trans. Brith. Mycol. Soc., Cambridge, 74: 247-251, 1980.
- HALOS, P.M. & ZORILLA, R.A. Vesicular-arbuscular mycorrhizae increase growth and yield of tomatoes and reduce infection by *Pseudomonas solanacearum*. Philippine Agriculturist. Laguna, 62(4): 309-315, 1979.
- HANSEN, H.M. "Pink-root" of onion caused by *Phoma* sp. Science, Washington, 26: 525, 1926.
- HANSEN, H.N. Etiology of the pink-root disease of onions. Phytopathology, Lancaster, 19(8): 691-704, 1929.
- HAYMAN, D.S. Mycorrhiza and its significance in horticulture. The Plantsman, 2(4): 214-224, s.d.
- HAYMAN, D.S. *Endogone* spores numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. Trans. Brith. Mycol. Soc., Cambridge, 54: 56-63, 1970.

- HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: VI. Effect of light and temperature. New Phytologist, Oxford, 73: 71-80, 1974.
- HAYMAN, D.S. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhizal: I. Growth of *Endogone* inoculated plants in phosphate-deficient soils. New Phytologist, Oxford, 70: 19-27, 1971.
- HIRREL, M.C. & GERDEMANN, J.W. Improved growth of onion and bell pepper in saline soil by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., Madison, 44(3): 654-655, 1980.
- HORTON, J.C. & KEEN, N.T. Sugar repression of endopolygalacturonase and cellulase synthesis during pathogenesis by *Pyrenochaeta terrestris* as a resistant mechanism in onion pink root. Phytopathology, St. Paul, 56: 908-916, 1966.
- HUSSEY, R.S. & RONCADORI, R.W. Interaction of *Pratylenchus brachyurus* and an endomycorrhizal fungus on cotton. J. Nematology, Lawrence, 10: 16-20, 1978.
- HUSSEY, R.B.; PETERSON, R.L.; TIESSEN, H. Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and asparagus (*Asparagus officinalis*). Plant and Soil, The Hague, 79: 403-416, 1984.

ISLAM, R. & AYANABA, A. Growth and yield responses of cowpea and maize to inoculation with *Glomus mosseae* in sterilized soil under field conditions. Plant and Soil, The Hague, 63: 505-509, 1981.

JABAJI-HARE, S.H. & STOBBS, L.W. Electron microscopic examination of tomato roots coinfectd with *Glomus* sp. and tobacco mosaic virus. Phytopathology, St. Paul, 74(3): 277-279, 1984.

JACKSON, N.E.; FRANKLIN, R.E.; MILLER, R.H. Effects of VA mycorrhiza on growth and phosphorus content of three agronomic crops. Proc. Soil Sci. Soc. Am., 36: 64-67, 1972.

KHAN, A.G. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals: I. Effects on maize growth. New Phytologist, Oxford, 71: 613-619, 1972.

KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola. In: GALLI, F., coord. Manual de Fitopatologia. 2^a ed. São Paulo, Ed. Agron. Ceres, 1980. v.2, cap. 5, p. 44-64.

KORMANIK, P.P. & MCGRAW, A.C. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: SCHENCK, N.C., ed. Methods and principles of mycorrhizal research. St. Paul, 1982. cap. 4, p. 37-45.

- KOTCON, J.B.; BIRD, G.W.; ROSE, L.M.; DIMOFF, K. Influence of *Glomus fasciculatum* and *Meloidogyne hapla* on *Allium cepa* in organic soils. Journal of Nematology, Athens, 17(1): 55-60, 1985.
- KREUTZER, W.A. Host-parasite relationships in pink root of *Allium cepa* L. I. The pigment of *Phoma terrestris*. Phytopathology, Lancaster, 29: 629-632, 1939.
- KREUTZER, W.A. Host-parasite relationships in pink root of *Allium cepa* L. II. The action of *Phoma terrestris* on *Allium cepa* and other hosts. Phytopathology, Lancaster, 31: 907-915, 1941.
- LATERROT, H.; BLANCARD, D.; COUTEAUDIER, Y. Les fusarioses de la tomate. P.H.M. - Revue Horticole, 288: 1-4, 1988.
- LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM, L. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, 7(1): 1-19, 1983.
- MACGUIDWIN, A.E.; BIRD, G.W.; SAFIR, G.R. Influence of *Glomus fasciculatum* on *Meloidogyne hapla* infecting *Allium cepa*. Journal of Nematology, Athens, 17(4): 389-395, 1985.

- MANJUNATH, A. & BAGYARAJ, D.J. Intensity of mycorrhizal infection and response of onion at different stages of growth. Plant and Soil, The Hague, 63: 295-298, 1981.
- MARONEK, D.M.; HENDRIX, J.W.; KIERNAN, J. Mycorrhizal fungi and their importance in horticultural crop production. Horticultural Reviews, Westport, 3: 172-213, 1981.
- MARTINEZ VIEIRA, R. & GARCIA GOMEZ, R. Control biológico de *Fusarium oxysporum* mediante aislados de *Trichoderma viride*. Ciencias de la Agricultura, Havana, 18: 3-9, 1984.
- MATARÉ, R. & HATTINGH, M. Effect of mycorrhizal status of avocado seedlings on root rot caused by *Phytophthora cinnamomi*. Plant and Soil, The Hague, 49: 433-435, 1978.
- McGRAW, A.C. & ZALEWSKI, J.C. Vesicular-arbuscular fungi and the pink root organism on onions; an interaction study. In: NORTH AMERICAN CONFERENCE ON MYCORRHIZAE, 3. Athens, 1977. Abstract. Athens, Institute for Mycorrhizal Research Development, 1977. p. 4.
- McGRAW, A.C. & SCHENCK, N.C. Growth stimulation of citrus, ornamental and vegetable crops by select mycorrhizal fungi. Proceedings of the Florida State Hort. Society, Tallahassee, 93: 201-205, 1980.

McGRAW, A.C. & SCHENCK, N.C. Effects of two species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the development of *Fusarium* wilt of tomato. Phytopathology, 71: 894, 1981. (Abstr.).

MELO, P.C.T.de. Genes maiores condicionando resistência a doenças fúngicas do tomateiro. (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Piracicaba, ESALQ/USP, 1984. 32 p. (revisão).

MENGE, J.A. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 61: 1015-1024, 1983.

MENGE, J.A.; NEMEC, S.; DAVIS, R.M.; MINASSIAN, V. Mycorrhizal fungi associated with citrus and their possible interactions with pathogens. Review of Plant Pathology, Kew, 59(11): 504, 1978.

MILLER Jr., J.C.; RAJAPAKSE, S.; GARBER, R.K. Vesicular-arbuscular mycorrhizal in vegetable crops. Hort. Science, Alexandria, 21(4): 974-984, 1986.

MITCHELL, J.E. The mechanisms of biological control of plant diseases. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 5: 721-728, 1973.

MOLINA, R.J.; TRAPPE, J.M.; STRICKER, G.S. Mycorrhizal fungi associated with *Festuca* in the Western United and Canada. Can. J. of Botany, Ottawa, 14: 1691-1695, 1978.

MOSSE, B. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 11: 171-196, 1973.

MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: IV. In soil given additional phosphate. New Phytologist, Oxford, 72: 127-136, 1973.

MOSSE, B. Specificity and VA mycorrhizas. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 469-484.

MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: X. Responses of *Stylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. New Phytologist, Oxford, 78: 277-288, 1977.

MOSSE, B. Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. In: HAWAII INSTITUTE OF TROPICAL AGRICULTURE AND HUMAN RESOURCES. Research Bulletin, 194. Hawaii, 1981. p. 1-82.

MOSSE, B. & HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: II. In unsterilized field soils. New Phytologist, Oxford, 70: 29-34, 1971.

NELSEN, C.E. & SAFIR, G.R. The water relations of well-watered, mycorrhizal and non-mycorrhizal onion plants. J. Amer. Soc. Hort. Sci., New York, 107: 271-274, 1982a.

NELSEN, C.E. & SAFIR, G.R. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. Planta, 154(5): 407-413, 1982b.

NELSON, C.E.; BOLGIANO, N.C.; FURUTANI, S.C.; SAFIR, G.R.; ZANDSTRA, B.H. The effect of soil phosphorus levels on mycorrhizal infection of field grown onion plants and on mycorrhizal reproduction. J. Amer. Soc. Hort. Sci., New York, 106: 786-788, 1981.

NODA, H. Reação de cebola (*Allium cepa* L.) a *Pyrenochaeta terrestris* (Hansen) Gorenz, Walker & Larson. Piracicaba, 1981. 161 p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

OCAMPO, J.A. Micorrizas VA. I. Características generales. Anales de Edafologia y Agrobiologia, Madrid, 39(1-2): 351-365, 1980a.

OCAMPO, J.A. Micorrizas VA. II. Efecto sobre el crecimiento de las plantas. Anales de Edafologia y Agrobiologia, Madrid, 39(5-6): 1049-1069, 1980b.

OLLIVIER, B.; BERTHEAU, Y.; DIEM, H.G.; GIANINAZZI-PEARSON, V. Influence de la variété de *Vigna unguiculata* dans l'expression de trois associations endomycorrhiziennes a vésicules et arbuscules. Can. J. of Botany, Ottawa, 61: 354-358, 1983.

- OWUSU-BENNOAH, E. & MOSSE, B. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza: XI. Responses of onion, lucerne, and barley to field inoculation with two endophytes. New Phytologist, Oxford, 83: 671-679, 1979.
- OWUSU-BENNOAH, E. & WILD, A. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the size of the labile pool of soil phosphate. Plant and Soil, The Hague, 54(2): 233-242, 1980.
- PAPAVIZAS, G.C. Status of applied biological control of soil-borne plant pathogens. Soil Biology and Biochemistry, Oxford, 5: 709-720, 1973.
- PERRIN, R. L'aptitude des mycorrhizes à protéger les plantes contre les maladies: panacée ou chimère? Ann. Sci. For., 42(4): 453-470, 1985.
- PERRY, B.A. & JONES, H.A. Performance of short-day pink-root-resistant varieties of onions in Southern Texas. Proceedings of the Am. Soc. for Hot. Science, Ithaca, 66: 350-353, 1955.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brith. Myc. Soc., Cambridge, 55: 158-161, 1970.

PIMENTEL GOMES, F. Curso de estatística experimental,
5^a ed. São Paulo, Livraria Nobel S.A., 1973. 430 p.

POWELL, C.L.; CLARK, G.E.; VERBENE, N.J. Growth response
of four onion cultivars to several isolates of vesicular-
arbuscular mycorrhizal fungi. New Zeal. J. of Agric.
Research, Wellington, 25(3): 465-470, 1982.

RAJAPAKSE, S. & MILLER Jr., J.C. Development of root
colonization by VA mycorrhizal fungi in two genotypes of
cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Hort. Science,
Alexandria, 18: 171, 1984a. (Abstr.).

RAJAPAKSE, S. & MILLER Jr., J.C. Intraspecific variability
for VA mycorrhizal infection in a cowpea (*Vigna*
unguiculata L. Walp.). Hort. Science, Alexandria,
20: 65, 1984b. (Abstr.).

RATNAYAKE, M.; LEONARD, R.T.; MENGE, J.A. Root exudation in
relation to supply of phosphorus and its possible
relevance to mycorrhizal formation. New Phytologist,
Oxford, 81: 543-552, 1978.

RHODES, L.H. & GERDEMANN, J.W. Phosphate uptake zones of
mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. New Phytologist,
Oxford, 75: 555-561, 1975.

RIAZI-HAMADANI, A.D.; PARBERY, G.; BEILHARZ, V.C. Vesicular-
arbuscular mycorrhizal nodules on tomato. Trans. Brith.
Mycol. Soc., Cambridge, 68: 138-140, 1977.

- RICH, J.R. & BIRD, G.W. Association of early-season vesicular-arbuscular mycorrhizae in increased growth and development of cotton. Phytopathology, St. Paul, 64: 1421-1425, 1974.
- RONCADORI, R.W. & HUSSEY, R.S. Interaction of the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* and root-knot nematode on cotton. Phytopathology, St. Paul, 67: 1507-1511, 1977.
- ROSS, J.P. Influence of *Endogone* mycorrhiza on *Phytophthora* rot of soybean. Phytopathology, St. Paul, 62: 896-897, 1972.
- SAFIR, G.R. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the resistance of onion to *Pyrenochaeta terrestris*. Urbana, 1968. 36 p. (M.S. Thesis - University of Illinois).
- SANDERS, F.E. The effect of foliar-applied phosphate on the mycorrhizal infections of onions roots. In: _____, MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 261-276.
- SANDERS, F.E. & TINKER, P.B. Phosphate flow into mycorrhizal roots. Pest. Sci., 4: 385-395, 1973.
- SANDERS, F.E.; TINKER, P.B.; BLACK, L.B.; PALMERLEY, S.M. The development of endomycorrhizal root systems: I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. New Phytologist, Oxford, 78: 257-268, 1977.

SANNI, S.O. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in some Nigerian soils and their effect on the growth of cowpea (*Vigna unguiculata*), tomato (*Lycopersicon esculentum*) and maize (*Zea mays*). New Phytologist, Oxford, 77: 667-671, 1976.

SCHENCK, N.C. Can mycorrhizae control root disease? Plant Disease, St. Paul, 65(1): 230-234, 1981.

SCHENCK, N.C.; KINLOCH, R.A.; DICKSON, D.W. Interaction of endomycorrhizal fungi and root-knot nematode on soybean. In: SANDERS, F.E.; MOSSE, B.; TINKER, P.B., ed. Endomycorrhizas. London, Academic Press, 1975. p. 605-617.

SCHENCK, N.C. & KELLAM, M.K. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on disease development. In: INSTITUTE OF FOOD AND AGRICULTURAL SCIENCES. Technical Bulletin, 798. Florida, 1978. p. 1-16.

SCHONBECK, F. Influence of the endotrophic mycorrhiza on disease resistance of higher plants. Review of Plant Pathology, Kew, 58(2): 486, 1978. (Abstr.).

SCHONBECK, F. & SCHINZER, U. Investigations on the influence of endotrophic mycorrhiza on TMV lesion formation in *Nicotiana tabacum* L. var. Xanthi-nc. Phytopath. Z., Berlin, 73: 78-80, 1972.

SCHONBECK, F. & DEHNE, H.W. Damage to mycorrhizal and non-mycorrhizal cotton seedlings by *Thielaviopsis basicola*. Plant Disease Reporter, St. Paul, 61: 266-267, 1977.

SCHONBECK, F. & SPENGLER, G. Detection of TMV in mycorrhizal cells of tomato by immuno. fluorescence. Review of Plant Pathology, Kew, 58(12): 486, 1978. (Abstr.).

SCHUBERT, A. & HAYMAN, D.S. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XVI. Effectiveness of different endophytes at different levels of soil phosphate. New Phytologist, Oxford, 103: 79-90, 1986.

SELMAN, I.W. & PEGG, G.F. An analysis of the growth response of young tomato plants to infection by *Verticillium albo-atrum*. Annals of Applied Biology, 45: 674-681, 1957.

SIKORA, R.A. Influence of endotrophic mycorrhizae *Glomus mosseae* on the host parasite relationship of *Meloidogyne incognita* in tomato. Review of Plant Pathology, Kew, 58(1): 7, 1978. (Abstr.).

SIQUEIRA, J.O. Cultura axênica e monoxênica dos fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., São Paulo, 1987. Programas e Resumos. São Paulo, Secr. do Meio Ambiente e da Agric. e USP, 1987. p. 44-70.

SITARAMAIAH, K. & SIKORA, R.A. Effect of the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatus* on the host-parasite relationship of *Rotylenchulus reniformis* in tomato. Nematologica, Leiden, 28(4): 412-419, 1982.

SMITH, G.E. Inhibition of *Fusarium oxysporum lycopersici* by a species of *Micromonospora* isolated from tomato.

Phytopathology, St. Paul, 47: 429-432, 1957.

SMITH, G.S.; RONCADORI, R.W.; HUSSEY, R.S. Interaction of endomycorrhizal fungi, superphosphate, and *Meloidogyne incognita* on microplot and field studies. Journal of Nematology, Lawrence, 18: 208-216, 1986a.

SMITH, S.E.; St. JOHN, B.J.; SMITH, F.A.; BROMLEY, J.L.

Effects of mycorrhizal infection on plant growth, nitrogen and phosphorus nutrition in glasshouse-grown *Allium cepa* L. New Phytologist, Oxford, 103: 359-373, 1986b.

SPARACE, S.A.; MUDD, J.B.; BURKE, B.B.; AASEN, A.J.

Pyrenocine C, a phytotoxin-related metabolite produced by the onion pink root pathogen *Pyrenochaeta terrestris*. Phytochemistry, Oxford, 23: 2693-2694, 1984.

SPARACE, S.A.; MUDD, J.B. The biosynthesis of the pyrenocines in cultures of *Pyrenochaeta terrestris*. Plant Physiology, Lancaster, 79: 308-310, 1985.

STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. Principles and procedures of statistics with special reference to the biological sciences. New York, McGraw Hill Book Co. Inc., 1960.

481 p.

- SURESH, C.K.; BAGYARAJ, D.J.; REDDY, D.D.R. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on survival, penetration and development of root-knot nematode in tomato. Plant and Soil, The Hague, 87: 305-308, 1985.
- TAUBENHAUS, J.J. Pink root a new disease of onions in Texas. Phytopathology, Lancaster, 7: 59, 1917. (Abstract).
- TAUBENHAUS, J.J. Pink root of onions. Science, Washington, 28: 217-218, 1919.
- THOMSON CASON, K.M.; HUSSEY, R.S.; RONCADORI, R.W. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus with *Meloidogyne incognita* on tomato. J. of Nematology, Athens, 15(3): 410-417, 1983.
- TINKER, P.B. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. In: JENNINGS, D.H. & LEE, D.L. Symbioses: PROC. SYMP. SOC. BIOL., 29th, Cambridge, 1975. Cambridge Univ. Press, 1975. p. 325-350.
- TOKESHI, H. Murcha de *Fusarium* em tomateiro - Estudo da variabilidade do patógeno e hospedeiro. Piracicaba, 1966. 63 p. (Livre-docência - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- TOKESHI, H.; ALLISON, C.C.; DEEP, I.W. Proteção cruzada em tomateiro com agentes de murcha *Fusarium* e *Verticillium*. Rev. Soc. Bras. Fitopatologia, Piracicaba, 5: 61-65, 1972.

TOKESHI, H. & CARVALHO, P.C.T. de. Doenças do tomateiro.

In: GALLI, F., coord. Manual de Fitopatologia. 2^a. ed.

São Paulo, Ed. Agron. Ceres, 1980. v. 2, cap. 35,

p. 511-552.

WALKER, J.C. Diseases of vegetable crops. New York, McGraw

Hill Book Co., 1952. 529 p.

WATSON, R.D. Rapid identification of the onion pink root

fungus. Plant Disease Reporter, Beltsville, 45: 289, .

1961.

WEAVER, D.J. & WEHUNT, E.J. Effect of soil pH on suscepti-

bility of peach to *Pseudomonas syringae*. Phytopathology,

St. Paul, 65: 984-989, 1975.

WEINDLING, R.; KATZNELSON, H.; BEADLE, H.P. Antibiosis in

relation to plant diseases. Annual Review of Micro-

biology, Palo Alto, 4: 247-260, 1950.

WELLMAN, F.L. A technique for studying host resistance

and pathogenicity in tomato *Fusarium* wilt. Phytopathology,

Lancaster, 29: 945-946, 1939.

WILHELM, S. Principles of biological control of soil-borne

plant diseases. Soil Biology and Biochemistry, Oxford,

5: 729-737, 1973.

- WINTER, A.G. Studies on the distribution and importance of mycorrhiza in cultivated *Gramineae* and some other agricultural economic plants. Phytopath. Z., Berlin, 17: 421-432, 1951.
- WOOD, R.K. & TVEITT, M. Control of plant diseases by use of antagonist organisms. Botanical Review, New York, 21: 441-492, 1955.
- ZAK, B. Role of mycorrhizae in root disease. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 2: 377-392, 1964.
- ZAMBOLIM, L. Como plantas micorrizadas comportam-se em relação aos fitopatógenos. O Biológico, São Paulo, 50: 53-69, 1984.
- ZAMBOLIM, L. Podem as micorrizas "protegerem" as plantas contra as doenças. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1., Piracicaba, 1986. Anais (avulso). Campinas, Fundação Cargill, 1986. p. 1-7.
- ZAMBOLIM, L. Tolerância de plantas micorrizadas a fitonematóides. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2. São Paulo, 1987. Programas e Resumos. São Paulo, Secr. do Meio Ambiente e da Agric. e USP, 1987. p. 103-126.
- ZAMBOLIM, L. & SCHENCK, N.C. Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and root-infection fungi on soybean. Phytopathology, St. Paul, 71: 267, 1981.