

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO  
EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

JOSÉ GOMES FILHO

**MANEJO DA FUSARIOSE EM PIMENTA-DO-REINO cv. BRAGANTINA**

Rio Largo - AL

2017

JOSÉ GOMES FILHO

**MANEJO DA FUSARIOSE EM PIMENTA-DO-REINO cv. BRAGANTINA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Proteção de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Edna Peixoto da Rocha Amorim

Rio Largo – AL

2017

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

G633m Gomes Filho, José.

Manejo da fusariose em pimenta-do-reino cv. Bragantina / José Gomes Filho. – 2017.  
92 f. : il.

Orientadora: Edna Peixoto da Rocha Amorim.  
Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2017.

Bibliografia: f. 72-90.

1. *Piper nigrum* – Doença - Controle. 2. Fusariose. 3. Pimenta do reino.  
I. Título.

CDU: 633.841



UFAL

**Universidade Federal de Alagoas**

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS  
CÓDIGO-CAPEs – 26001012029P1



CECA

Aos vinte e nove dias do mês de setembro de dois mil e dezessete, na sala de aula do Prédio da Pós-Graduação, do Centro de Ciências Agrárias da UFAL, sob a Presidência da Profa. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim, reuniu-se a Banca Examinadora para Defesa Pública da Dissertação do engenheiro agrônomo **José Gomes Filho**, aluno do Curso de Mestrado em Proteção de Plantas da UFAL, com o título: **“Manejo da fusariose na pimenta-do-reino cv. Bragantia.”**. A Banca examinadora ficou assim constituída: Profa. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim (CECA/UFAL) – Orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria de Fátima Silva Muniz (CECA/UFAL) - Membro Titular, Dra. Maria Quitéria Cardoso dos Santos - Membro Titular. Ocorrências: Abertura pela Presidente da Banca, Profa. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim, que agradeceu a valiosa presença dos demais membros componentes da Banca, manifestando sua satisfação pela defesa da Dissertação do Curso de Mestrado em Proteção de Plantas da UFAL, desta feita sob sua orientação. A seguir, parabenizou o aluno José Gomes Filho pelo trabalho apresentado. A presidente da Banca Examinadora iniciou os trabalhos passando a palavra à Dra. Maria Quitéria Cardoso dos Santos e, logo após, foram ouvidos os comentários e análises do outro componente da Banca. Terminada a defesa, procedeu-se o julgamento pelos membros examinadores, sendo o candidato **APROVADO**. O candidato foi informado que terá um prazo de sessenta (60) dias para efetuar as correções sugeridas pela Banca Examinadora e entregar na Coordenação do Curso os exemplares com as modificações sugeridas pela Banca e apresentar o comprovante de submissão de pelo menos um artigo extraído de sua Dissertação para expedição do Diploma de Mestre em Proteção de Plantas. Para constar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos Senhores Membros da Banca Examinadora e por mim, Gustavo Luiz Nepomuceno Lage, Secretário. Rio Largo (AL), 29 de setembro de 2017.

*Edna Peixoto da Rocha Amorim*

Profa. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim  
Presidente Titular

*Maria Quitéria Cardoso dos Santos*

Dra. Maria Quitéria Cardoso dos Santos  
Membro Titular

*Maria de Fátima Silva Muniz*

Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz  
Membro Titular

*José Gomes Filho*

José Gomes Filho  
Engenheiro Agrônomo

*Gustavo Luiz Nepomuceno Lage*

Gustavo Luiz Nepomuceno Lage  
Secretário

## ***DEDICO***

A **Deus**, *pela clareza das coisas*. Aos meus pais **José Gomes** e **Maria do Socorro de Oliveira Gomes**, pelo exemplo de honestidade, dedicação, apoio e incentivo em todas as etapas de minha vida. À minha avó **Maria de Lourdes de Oliveira** pelo exemplo de vida; meus irmãos **Mauri de Oliveira Gomes**, **Cícero de Oliveira Gomes**, **José Luciano de Oliveira Gomes**, **Maciel de Oliveira Gomes** e a minha namorada **Tyara Lopes Alves**, pelo incentivo e companheirismo. Aos meus sobrinhos e sobrinhas **Gabriela**, **Grazielli**, **Bruna** e **Diego**

Para aquela com quem aprendi muito, pela amizade, experiência transmitida e pela oportunidade de fazer parte de sua história de muitas realizações, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. **Edna Peixoto da Rocha Amorim**

***HOMENAGEM***

## AGRADECIMENTOS

À Deus em primeiro lugar, pela vida e por ter guiado meus caminhos durante esses anos.

À Universidade Federal de Alagoas, ao Centro de Ciências Agrárias, e ao Programa de Pós - Graduação em Proteção de Plantas por permitir a realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Edna Peixoto da Rocha Amorim, por mais uma orientação, pela dedicação, apoio, atenção, amizade, paciência e ensinamentos transmitidos para a realização desse trabalho.

À prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Maria de Fátima Silva Muniz, pelos ensinamentos, pela contribuição ao realizar as correções e sugestões.

À Dr.<sup>a</sup>. Maria Quitéria Cardoso dos Santos, pela contribuição ao realizar as correções, pelas sugestões a melhoria do trabalho.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, pelos ensinamentos.

Aos meus pais, José Gomes e Maria do Socorro, os quais tenho imensa admiração, que sempre estiveram ao meu lado nos momentos difíceis da vida, pelo amor, carinho e educação minha eterna gratidão.

À minha namorada Tyara Lopes Alves, por estar sempre ao meu lado, apoiando, incentivando, e pelo amor.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia, em especial aos amigos Elton Benedito dos santos, Gerlan do Nascimento Rodrigues, Samuel Lima, Valdeir Carvalho, por todo apoio, amizade e pela ótima convivência durante esses anos.

Aos colegas da pós-graduação (Turma 2015.2), em especial ao amigo Marcelo, pelo excelente convívio durante a realização do curso.

E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta na realização desse trabalho.

Muito obrigado!

## RESUMO

A cultura da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), é uma especiaria de grande valor econômico, consumida mundialmente. No Brasil sua produção vem sendo limitada pela fusariose, principal doença da cultura, provocada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, causando a redução dos plantios no campo e até a morte da planta. Considerando as dificuldades e limitações no controle desta doença, a busca por novos métodos de controle alternativos vem se tornando bastantes promissores nas áreas produtoras do país. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de óleos essenciais, extratos vegetais e matéria orgânica no controle da fusariose em pimenta-do-reino. Foram instalados dois experimentos “*in vitro*” no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL): o primeiro avaliou o efeito de óleos essenciais de nim, hortelã, copaíba, eucalipto, coco e alho em diferentes doses de 25, 50, 75 e 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $(6 \times 4) + 2$ . O segundo, avaliou o efeito dos extratos brutos aquosos (EBA) nas concentrações de 5, 10, 15 e 20%, com experimento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $(5 \times 4) + 2$ , ambos com seis repetições, sobre a inibição do crescimento micelial do patógeno em meio BDA. A partir dos melhores resultados “*in vitro*” foi realizado um experimento com mudas de pimenta-do-reino inoculadas com discos de micélio de *F. solani*, que foram pulverizadas com 20 mL dos óleos essenciais de hortelã e nim, nas doses de 50 e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  e com os extratos brutos aquosos de melão-de-são caetano e mandioca nas concentrações de 10 e 15%. O fungicida foi pincelado nos caules das plantas em forma de pasta na dose de 0,2 g.100 mL<sup>-1</sup>. O delineamento foi inteiramente casualizado, com dez tratamentos e cinco repetições. Em outro experimento, avaliou-se os resíduos orgânicos de casca de coco, casca de mandioca, folhas de eucalipto, nim e de pimenta-do-reino nas doses de 25, 50, 75 e 100 g.Kg<sup>-1</sup> incorporadas ao solo para o controle da fusariose em mudas de pimenta-do-reino, sendo avaliadas aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação do patógeno com uma suspensão de  $1,8 \times 10^{-6}$  con/mL. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os óleos essenciais de hortelã e nim (50 e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e os extratos de melão-de-são caetano e mandioca (10 e 15%) proporcionaram os maiores percentuais de inibição micelial (91,61, 100, 41,74, 45,96, 61,01, 57,61, 51,53 e 55,48%), respectivamente. O EBA de melão-de-são caetano (15%) e o óleo essencial de hortelã (75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ), promoveram os menores índice de doença, com 24 e 28% respectivamente. Os resíduos orgânicos de casca de mandioca e folhas de nim foram os mais eficientes no controle da fusariose aos 30, 60 e 90 dias.

**Palavras-chave:** *Piper nigrum*, *Fusarium solani*. Óleos essenciais. Extratos vegetal. Resíduos orgânicos.

## ABSTRACT

The Black pepper (*Piper nigrum* L.) is a spice of great economic value, consumed worldwide. In Brazil, its production has been limited by the fusariosis, the main disease of the crop, caused by the fungus *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, causing the reduction of the plantations in the field and until the plant death. Considering the difficulties and limitations in controlling this disease, the search for new alternative control methods has become quite promising in the country's producing areas. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of essential oils, plant extracts and organic matter in the control of fusariosis in black pepper. Two in vitro experiments were carried out at the Phytopathology Laboratory of the Agricultural Sciences Center of the Federal University of Alagoas (CECA / UFAL): the first evaluated the effect of essential oils of neem, spearmint, copaiba, eucalyptus, coconut and garlic in different (6 x 4) + 2. The second one, which evaluated the effect of the crude aqueous extracts (EBA) at the concentrations of 5, 10, 10, 15, 25 and 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , 15 and 20%, with a completely randomized experiment in a factorial scheme (5 x 4) + 2, both with six replicates, on the inhibition of mycelial growth of the pathogen in BDA medium. From the best "in vitro" results, an experiment was carried out with Pepper worm seedlings inoculated with *F. solani* mycelium discs, which were sprayed with 20 mL of the essential oils of mint and neem at doses of 50 and 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  and with the crude aqueous extracts of caetano-melon and cassava in concentrations of 10 and 15%. The fungicide was brushed in the stems of the pulp-shaped plants at a dose of 0.2 g. 100  $\text{mL}^{-1}$ . The design was completely randomized, with ten treatments and five replicates. In another experiment, organic residues of coconut husk, cassava husk, eucalyptus leaves, neem and black pepper were evaluated at a dose of 25, 50, 75 and 100  $\text{g.Kg}^{-1}$  were incorporated into the soil for the control of fusariosis in pepper plants, being evaluated at 30, 60 and 90 days after inoculation of the pathogen with a suspension of  $1.8 \times 10^{-6}$  con/mL. The data were submitted to analysis of variance and regression and the means were compared by the Tukey test at the 5% probability level. Essential oils of peppermint and neem (50 and 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ) and extracts of melon-de-cassetane and cassava (10 and 15%) provided the highest percentages of mycelial inhibition (91.61, 100, 41.74, 45.96, 61.01, 57.61, 51.53 and 55.48%), respectively. The EBA of caetano melon (15%) and the essential oil of mint (75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ), promoted the lowest disease rate, with 24 and 28% respectively. Organic residues of cassava husk and neem leaves were the most efficient in the control of fusariosis at 30, 60 and 90 days.

**Key words:** *Piper nigrum*, *Fusarium solani*. Essencial oils. Plant extracts, Organic waste



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Planta de pimenta-do-reino cv. bragantina (A), tutor de madeira usado nos plantios (B) e planta em fase de frutificação (C) .....	17
Figura 2 - Etapas do procedimento do teste de patogenicidade em mudas de pimenta-do-reino. Corte no caule da planta (A); disco de micélio do patógeno com 5 mm de diâmetro (B); inserção do disco no caule da planta (C) .....	33
Figura 3 - Teste de patogenicidade pelo método ferimento das raízes. Ferimento no sistema radicular da planta (A); Deposição de 20 mL da solução de conídios na planta (B) .....	34
Figura 4 - Vista geral do experimento sobre o efeito dos extratos vegetais e óleos essenciais no controle da fusariose.....	38
Figura 5 - Mudas de pimenta-do-reino tratadas com extratos vegetais e óleos essenciais (A); Aplicação do fungicida no colo da planta (B) .....	38
Figura 6 - Incorporação dos resíduos orgânicos ao solo (A); vasos com os resíduos orgânicos incorporados (B).....	41
Figura 7 - Experimento “ <i>in vivo</i> ” com resíduos orgânicos no controle da fusariose ( <i>Fusarium solani</i> ) .....	41
Figura 8 - Sintomas internos da fusariose aos 90 dias. Sistema radicular da planta (A); Corte longitudinal no sistema radicular (B) e no caule da planta (C); Corte transversal no caule (D) e no sistema radicular (E).....	42
Figura 9 - Aspectos gerais de <i>Fusarium solani</i> .: Verso e reverso da colônia (A - B), microconídios (C), macroconídios (D), clamidósporos (E - F), microconídios em falsas cabeças (G - H) .....	44
Figura 10 - Teste de patogenicidade com exibição de sintomas na parte externa e interna da planta. Amarelecimento nas folhas (A); Amarelecimento e escurecimento do caule (B); Escurecimento total do caule (C); Escurecimento e amarelecimento de ramo (D); Amarelecimento e apodrecimento do entrenó do caule (E); Escurecimento dos vasos condutores (F); Reisolamento do patógeno (G) .....	45

Figura 11 - Efeito dos óleos essenciais independente da dose utilizada sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de <i>Fusarium solani</i> .....	49
Figura 12 - Efeito da concentração de extrato bruto aquoso (EBA) de pimenta-do-reino ( <i>Piper nigrum</i> L.) na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de <i>Fusarium solani</i> ..	54
Figura 13 - Efeito das médias gerais de extratos brutos aquosos (EBA) sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de <i>Fusarium solani</i> .....	55
Figura 14 - Efeito de óleos essenciais e extratos brutos aquosos sobre a incidência da fusariose ( <i>Fusarium solani</i> ) em mudas de pimenta do reino. ....	59
Figura 15 - Porcentagem total da frequência das espécies fúngicas identificadas nos resíduos orgânicos de nim, eucalipto, pimenta-do-reino, casca de coco e casca de mandioca, após incubadas por 72 h em meio BDA.....	62
Figura 16 - Efeito da incorporação de diferentes doses de resíduos orgânicos no controle da fusariose de pimenta-do-reino. ....	69
Figura 17 - Efeito de resíduos orgânicos sobre a incidência da fusariose aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação de <i>Fusarium solani</i> em mudas de pimenta do reino .....	71
Figura 18 - Efeito dos resíduos orgânicos no comprimento da raiz em mudas de pimenta-do-reino na fusariose causada por <i>Fusarium solani</i> .....	72
Figura 19 - Efeitos dos resíduos orgânicos sobre o desenvolvimento do sistema radicular de mudas de pimenta-do-reino aos 90 dias após a inoculação com <i>Fusarium solani</i> . Testemunha (A); Casca de Coco (CC) (B); Folhas de Nim (FN) (C); Folhas de Eucalipto (FE) (D); Casca de Mandioca (CM) (E); Folhas de Pimenta-do-reino (FPR) (F) e Fungicida (G).....	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características morfológicas e culturais de <i>Fusarium solani</i> , obtido em área produtora de pimenta-do-reino com sintoma de fusariose no município de Atalaia - AL .....	43
Tabela 2 - Resumo da análise de variância do efeito dos óleos essenciais sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC%) de <i>Fusarium solani</i> .....	46
Tabela 3 - Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de <i>Fusarium solani</i> .....	46
Tabela 4 - Modo de ação do óleo essencial testado que apresentou inibição de 100% do crescimento micelial de <i>Fusarium solani</i> .....	50
Tabela 5 - Efeito da interação dos extratos brutos aquosos (EBA) de pimenta-do-reino, mandioca, mamona, melão-de-são caetano e coentro sob diferentes concentrações na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de <i>Fusarium solani</i> .....	51
Tabela 6 - Efeito dos extratos brutos aquosos de melão-de-são caetano (EBAME), mandioca (EBAMA) e óleos essenciais de nim (OENIM), hortelã (OEHORT) sobre a incidência da fusariose em mudas de pimenta-do-reino ( <i>Piper nigrum</i> L.) .....	56
Tabela 7 - Colônias de bactérias totais presente nos resíduos orgânicos de nim, eucalipto, pimenta-do-reino, casca de coco e casca de mandioca, após incubadas por 24 h em meio BDA .....	60
Tabela 8 - Identificação e número de colônias fúngicas observados nas duas diluições em 0,5 g dos resíduos orgânicos de nim, eucalipto, pimenta-do-reino, casca de coco e casca de mandioca, após incubadas por 72 h em meio BDA .....	61
Tabela 9 - Características químicas dos resíduos orgânicos analisados .....	64
Tabela 10 - Análise química do solo, utilizado nos experimentos .....	65
Tabela 11 - Efeito de resíduos orgânicos de folhas pimenta-do-reino (FPR), eucalipto (FE), nim (FN), casca de coco (CC) e casca de mandioca (CM) em diferentes concentrações no controle da fusariose aos 30 dias após a inoculação .....	66

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
<b>2.1 Origem, características botânicas e importância econômica da cultura da pimenta-do-reino</b> .....	16
<b>2.2 Doenças da Pimenta-do-reino</b> .....	18
<b>2.2.1 Fusariose ou podridão-das-raízes</b> .....	19
<b>2.3 Manejo da fusariose</b> .....	22
<b>2.3.1 Uso de óleos essenciais e extratos vegetais no controle de doenças de plantas</b> .....	23
<b>2.3.2 Resíduos orgânicos no controle de doenças radiculares</b> .....	28
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
3.1 Local de execução dos experimentos .....	32
3.2 Obtenção e preservação do isolado .....	32
3.3 Teste de patogenicidade e reisolamento do isolado.....	32
3.4 Identificação do patógeno.....	34
3.4.1 Caracterização morfológica.....	34
3.4.2 Caracterização molecular .....	34
3.5 Manejo da doença.....	35
3.5.1 Obtenção das mudas, extratos vegetais e óleos essenciais .....	35
3.5.2 Obtenção dos resíduos orgânicos vegetais .....	35
3.5.3 Análise microbiológica e química dos resíduos orgânicos e análise do solo .....	36
3.5.4 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o crescimento micelial de <i>Fusarium solani</i> .....	37
3.5.5 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o controle da fusariose em mudas de pimenta-do-reino .....	39
3.5.6 Efeito da incorporação de matéria orgânica no controle da fusariose em pimenta-do-reino .....	40
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
4.1 Identificação do isolado e caracterização molecular .....	43
4.2 Teste de patogenicidade e reisolamento .....	44
4.3 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o crescimento de micelial de <i>Fusarium solani</i> .....	45

4.3.1 Inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium solani</i> com óleos essenciais .....	45
4.3.2 Modo de ação dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de <i>Fusarium solani</i> ..	49
4.3.3 Inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium solani</i> com extratos brutos aquosos (EBA) .....	50
4.4 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o controle da fusariose ( <i>Fusarium solani</i> ) em mudas de pimenta-do-reino .....	56
4.5 Resíduos orgânicos no controle da fusariose em pimenta-do-reino .....	59
4.5.1 Análise microbiológica dos resíduos orgânicos .....	59
4.5.2 Características das propriedades químicas dos resíduos orgânicos e análise química do solo.....	63
4.5.3 Efeito da incorporação de matéria orgânica no controle da fusariose em pimenta-do-reino .....	65
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	73
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	74
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	75

## 1. INTRODUÇÃO

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), cultura de exploração milenar, é uma das especiarias mais importante e consumida mundialmente. Amplamente utilizada como condimento no preparo e em processamento de alimentos (PRABHAKARAN NAIR, 2011).

No Brasil, a produção de pimenta-do-reino vem crescendo fortemente, destacando-se no comércio agrícola nacional e internacional. Aproximadamente toda produção destinada ao mercado externo é comercializada na forma processada, enquanto para o mercado interno tanto as formas processadas como “in natura” são importantes (CAVALCANTE, 2005; EMATER, 2013).

O Brasil está entre os maiores produtores e exportadores dessa commodity no mundo. Os estados do Pará, Espírito Santo e Bahia são responsáveis por aproximadamente 98,3% da produção nacional. Na região Nordeste do país, os maiores produtores da cultura são os estados Bahia, Alagoas, Maranhão, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará. Em Alagoas, dados de 2016 indicam que a área colhida de pimenta-do-reino foi de 183 ha, com uma produção de 584 toneladas e um rendimento médio de 3.191 Kg.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2016).

A produção de pimenta-do-reino, no Brasil, vem sendo comprometida e limitada, principalmente por problemas de fitossanidade que causam danos às lavouras e perdas na produção (DRUMOND NETO, 2012). O principal fator limitante no cultivo agrícola da cultura é a doença conhecida por fusariose (OLIVEIRA, 2012). Segundo Lourinho et al. (2014), a fusariose ou podridão-das-raízes é a principal doença da cultura, causada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, restrito ao Brasil e vem causando a redução de vida útil das pimenteiras nas regiões produtoras. A doença destrói o sistema radicular, o que provoca sérios prejuízos econômicos (FISCHER et al., 2010; SWARUPA; RAVISHANKAR; REKAR, 2013). A produtividade das pimenteiras cultivadas no estado alagoano está sendo ameaçada pelo aparecimento da fusariose ou podridão-das-raízes nas áreas produtoras. Em março de 2005, foi detectado, no município de União dos Palmares, o primeiro relato de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* em pimenta-do-reino cv. bragantina (CARNAÚBA et al., 2007).

O controle da fusariose é muito difícil, devido à forma de sobrevivência do patógeno, sua alta capacidade de competição saprofítica e pela impossibilidade de diagnosticar a infecção inicial nas raízes no ambiente subterrâneo.

Os métodos que vem sendo empregados são pouco eficientes. Não há nenhum registro de fungicida recomendado para a fusariose em pimenta-do-reino no sistema de agrotóxicos fitossanitários (AGROFIT – MAPA). Nenhuma das cultivares de pimenta-do-reino existentes até o momento são resistentes ou tolerantes ao *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. Segundo Rocha Neto (2013), torna-se necessário adotar medidas preventivas e práticas culturais que possam reduzir a taxa de progresso da doença.

O controle alternativo com substâncias naturais já vem sendo estudado a alguns anos com o propósito de controlar fitopatógenos (SANTOS, 2015). O uso de óleos essenciais e extratos vegetais vêm apresentando resultados significativos e eficientes no controle de diversos fitopatógenos (SILVA et al., 2009). A ação fungitóxica pode ser decorrente da atividade antimicrobiana exercida diretamente contra o patógeno, retardando o crescimento micelial ou inibindo a esporulação e a germinação de esporos (VENTUROSOSO et al., 2011; GARCIA et al., 2012).

Um dos focos de estudo são os chamados metabólitos secundários produzidos pelas plantas, muitos dos quais não participam diretamente de seu desenvolvimento. Essas substâncias desempenham um papel fundamental nas suas interações de defesa contra predadores e patógenos. Muitos destes metabólitos secundários apresentam atividades biológicas e têm sido utilizados na indústria farmacêutica e agroquímica (ANDRADE, 2006; SOUZA JÚNIOR, et al., 2009).

A incorporação de cobertura morta também é uma outra alternativa de controle envolvida no manejo de doenças causadas por patógenos radiculares. Segundo Blok et al. (2000) a utilização de compostos orgânicos, constituem uma alternativa eficiente no controle de fitopatógenos veiculados pelo solo, uma vez que melhoram as características físico-químicas do solo, induzindo a supressividade dos fitopatógenos.

Diante dos danos que a fusariose vem causando nas regiões produtoras de pimenta-do-reino no país e das limitações no controle da fusariose, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de óleos essenciais, extratos vegetais e matéria orgânica no manejo da fusariose em pimenta-do-reino cv. Bragantina.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Origem, características botânicas e importância econômica da cultura da pimenta-do-reino

A pimenta-do-reino, também conhecida como pimenta branca e preta é originária das florestas do sul da Índia, onde vem sendo cultivada por cerca de 6.000 anos.

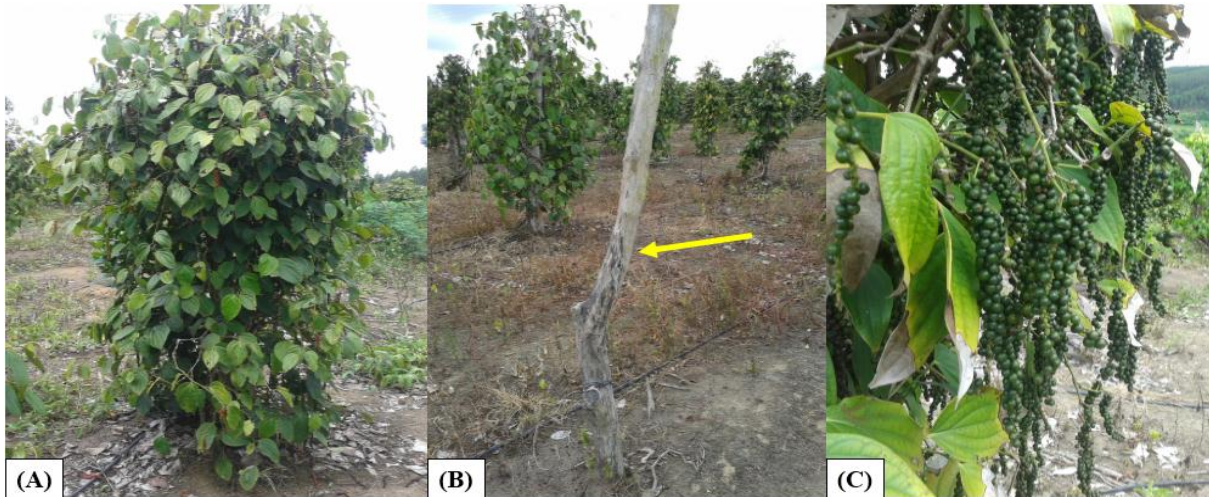
No Brasil, a cultura foi introduzida pelos portugueses durante o período colonial, desde o século XVII. A exploração comercial da cultura foi a partir do ano de 1933 por imigrantes japoneses com a introdução da cultivar Kuching (Cingapura) no município de Tomé-Açu no estado do Pará (DUARTE, 1999; FARIA FILHO, 2002; CHU, 2006; DESER, 2008). A expansão da cultura para outras localidades da Amazônia e outros estados brasileiros fez com que ampliasse a área cultivada, tornando o Brasil autossuficiente na década de 1950 na produção de pimenta (EMBRAPA, 2013). De acordo com Homma (1998), nos anos 80 o país chegou a ser o maior produtor e exportador da especiaria do mundo. A alta expressividade de produção fez com que o país integrasse a IPC – *Internacional Pepper Community*, organização intergovernamental de países produtores de pimenta, formado por Brasil, Índia, Indonésia, Malásia, Sri Lanka e Vietnã. Fundada em 1972, desempenha diversas funções voltadas a coordenação, as políticas de produção, exportação, controle de qualidade e ao uso do condimento (DRUMOND NETO, 2012).

É uma planta de clima tropical de espécie perene, arbustiva e trepadeira pertencente à família da Piperácea, que cresce aderida a tutores de madeiras ou troncos de árvores e apresenta frutos do tipo baga com inflorescências formadas nos ramos plagiotrópicos (DUARTE; ALBUQUERQUE, 2005) (Figura 1). A família Piperaceae compreende cerca de 1400 espécies distribuídas no mundo (SOLTIS et al., 1999). Arias et al. (2006) e Magevshi et al. (2011) afirmam que a família Piperaceae são representadas por quatro gêneros e cerca de 500 espécies no Brasil. Segundo Brito (2012), o gênero *Piper* é de maior relevância e valor econômico, pois tem como principal representante a pimenta-do-reino.

É uma cultura que se desenvolve bem em clima quente e úmido, com temperatura variando de 23 a 28 °C, precipitação pluviométrica de 2500 mm/ano e umidade relativa acima de 80%, além de solos que apresentem boa drenagem (ALBURQUERQUE et al., 1989; LEMOS, 2003; CHU et al., 2006; OLIVEIRA, 2012).



Figura 1 - Planta de pimenta-do-reino cv. bragantina (A), tutor de madeira usado nos plantios (B) e planta em fase de frutificação (C).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

A produção das pimenteiras em escala comercial se dá através da propagação vegetativa (CASTRO, 1979; DUARTE, 1999). O principal método utilizado de propagação da pimenta-do-reino é por estaquia (FACHINELO et al., 1995; PAIVA & GOMES, 1995; HARTMANN et al., 2011).

De acordo com Freire (2013), nos plantios comerciais de pimenta-do-reino as principais variedades recomendadas são: Cingapura, Bragantina e Guajarina. A variedade Bragantina, muito cultivada em Alagoas, apresenta folhas largas, cordiformes, espigas muito longas, flores 100% hermafroditas, o que favorece um bom enchimento das espigas com frutos graúdos, brotos novos dos ramos de crescimento na cor verde clara. Pode atingir três metros de altura e proporciona uma produção média de 3 kg/planta com rendimento médio em torno de 4,8 toneladas por hectare (SECUNDINO, 2012).

A pimenta-do-reino desempenha grande importância socioeconômica no agronegócio brasileiro e mundial. Por se tratar de um produto de exportação a pimenta é considerada um banco verde, ou seja, um produto que o agricultor usa para aumentar a renda familiar devido ao alto preço alcançado no mercado nacional e internacional. Conforme Cavalcante (2005), na questão social é uma cultura que precisa de muita mão-de-obra, pois a cada tonelada colhida corresponde a um emprego no campo. O cultivo dessa especiaria vem gerando renda para famílias rurais, uma vez que empregam diversas pessoas nos períodos de safra, cerca de 50 mil

pessoas. Além de divisas em torno de US\$ 50 milhões por ano através das exportações (EMBRAPA, 2004).

Filgueiras et al. (2012), afirmam que no período de safra no estado do Pará a cultura da pimenta-do-reino gerou divisas de mais de 50 milhões de dólares ao ano e empregou cerca de 70 a 80 mil pessoas. Sendo uma das especiarias mais valorizadas do mundo a cultura apresenta grande valor econômico e alta expressão no mercado de exportação.

Em 2015 foram produzidos 374.500 toneladas de pimenta-do-reino em todo o mundo. Atualmente, o Vietnã é o maior produtor (125 mil toneladas), seguido de Brasil (54.031 toneladas), Indonésia, Índia, Malásia, Tailândia, Sri Lanka, China e outros (ALVES, 2015; IBGE, 2016). No ano de 2016, a exportação de pimenta-do-reino gerou uma receita de US\$ 246.501.361 milhões para o agronegócio brasileiro (MDIC, 2016). Os principais países compradores são os Estados Unidos, Alemanha, França, Espanha, Holanda, México, Argentina, Vietnã (CAVALCANTE, 2005; LIMA et al., 2010).

No Brasil, as Regiões Norte e Sudeste possuem os maiores volumes de produção e as maiores áreas cultivadas, sendo que a Região Nordeste apresenta o maior rendimento agrícola, correspondendo a 2.400 Kg.ha<sup>-1</sup>. O estado do Pará é o maior produtor nacional de pimenta-do-reino com 66,34% da produção brasileira, seguido do Espírito Santo com 23,6% e Bahia com 8,33%, responsável por cerca de 86,74% da produção do Nordeste. O estado de Alagoas, apesar de produzir apenas 11,26% da Região Nordeste possui um rendimento de 3.191 Kg.ha<sup>-1</sup>, superando o rendimento agrícola nacional de 2.109 Kg.ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2016).

## 2.2 Doenças da Pimenta-do-reino

Dentre as doenças que atacam a cultura da pimenta-do-reino, as que causam os maiores danos econômicos para os produtores rurais são a fusariose ou podridão-das-raízes (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) e a murcha-amarela (*Fusarium oxysporum*). No entanto, há outras doenças que provocam menores danos nas pimenteiras como a queima-do-fio (*Koleroga noxia*) e a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) (TREMACOLDI, 2010). De acordo com Duarte (1999), merecem atenção no cultivo de pimenta-do-reino a requeima de mudas (*Phytophthora capsici* Leonia); a galha das raízes (*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Tread) Chitwood); a rubelose (*Corticium salmonicolor* Berk & Broome); o mosaico causado pelo vírus do mosaico do pepino (CMV); a queima da teia micélica (*Rhizoctonia solani*

Kuhn); a podridão preta dos frutos (*Cephaleuros virescens* Kunze); e a podridão das estacas (*Sclerotium rolfsii* Sacc).

### 2.2.1 Fusariose ou podridão-das-raízes

A fusariose, conhecida pelos agricultores por podridão-das-raízes, podridão-do-pé e mal-de-mariquita, é uma das doenças mais prejudiciais à cultura da pimenta-do-reino (TRINDADE, POLTRONIERI,1997). Segundo Duarte; Albuquerque (1980); Ando et al.(1996); Benchimol et al., (2000) a fusariose é considerada a principal doença da cultura, de ocorrência restrita ao Brasil e conforme Albuquerque et al. (2001), no hemisfério oriental a doença fusariose não ocorre, devido as maiores dispersões e variações genéticas da espécie onde está localizada o centro de origem da pimenta-do-reino.

Na década de 1960, surgiram os primeiros relatos de plantas de pimenta-do-reino exibindo sintomas, onde foram observados amarelecimento e queda sucessiva de folhas e entrenós, resultando na morte de várias plantas no município de Tomé-Açu – PA (DUARTE, 1999). As condições favoráveis de umidade e temperatura contribuíram para a esporulação do fungo nas hastes das plantas mortas presas aos tutores, e em 1970, houve a infecção dos ramos das pimenteiros, aumentando ainda mais a gravidade da doença, devido principalmente à disseminação aérea dos esporos (ALBUQUERQUE; DUARTE, 1972a).

A doença vem causando elevadas perdas, em todas as áreas produtoras nos estados do Pará, Amazonas, Rondônia, Amapá, Paraíba, Maranhão, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Mato grosso e Alagoas. O ciclo produtivo de uma lavoura sadia é de 12 a 15 anos, como consequência da doença seu ciclo foi alterado, tornando-se mais curto, 5 a 6 anos (TREMACOLDI, 2014). De acordo com Carnaúba et al. (2007), a fusariose causa uma redução do período útil de exploração das pimenteiros para apenas quatro anos. A doença provoca redução de até 10% nas áreas cultivadas e ocasiona perdas de 10 milhões de dólares/ano (TREMACOLDI, 2010). De acordo com D'Addazio et al. (2016), a fusariose provoca graves danos a pimenta-do-reino, reduzindo a área cultivada e a produção em 3% anualmente.

Para Duarte (1999, p. 161):

Calcula-se que mais de 10 milhões de pimenteiros tenham sido dizimadas pela doença. Essas perdas são ainda maiores ao se considerar as reduções de produtividade e do ciclo de vida produtivo da planta, bem como a queda de preços no mercado internacional. Não há registro de cultivares resistentes e nem tolerantes à doença.

A infecção da doença na planta de pimenta-do-reino pode iniciar pelas raízes e ramos. As raízes mais jovens e secundárias são as principais vias de penetração do patógeno e com o progresso da doença, o sistema radicular é reduzido e verifica-se a ausência de radículas, levando a podridão da raiz. Este apodrecimento estende-se ao colo da planta até 30 cm acima do solo. Ao realizar o corte longitudinal no caule com 3 a 5 cm próximo do solo, observa-se o escurecimento dos vasos condutores (xilema e floema), que dependendo da intensidade ou agressividade do patógeno, pode ocorrer o secamento total e morte da planta. O escurecimento dos vasos condutores é devido a colonização por hifas e microconídios do patógeno, que causam a hipertrofia, hiperplasia do cambium, xilema e floema e a destruição de fibras de xilema e amiloplastos de células do parênquima (ORTIZ et al., 2014). À proporção que o fungo se desenvolve dentro do sistema vascular da planta, toxinas fúngicas são produzidas como naftoquinonas e ácido fusárico que dificultam a absorção e transporte de água (ROCHA et al., 2016).

Os sintomas reflexos são o amarelecimento das folhas e a clorose, resultando em folhagens esparsas e flácidas, como consequência, a queda das folhas prematuras e rompimento dos internódios. Duarte (1999) afirma que nos ramos, os primeiros sinais são o amarelecimento em plantas bem vigorosas com formação de lesões escuras que cobrem um ou mais nós distribuindo-se para outros ramos, causando a queima e secamento de alguns ramos, podendo alcançar até o sistema radicular. Na base do caule da planta há uma exsudação escura brilhante, indicando um estágio evoluído da fusariose (FUKUTOMI et al., 1981). Segundo Cavalcante (2005), o surgimento da exsudação escura brilhante na base do caule da planta faz com que a doença se espalhe rapidamente ocasionando a morte da planta no período de dois anos.

Ventura; Costa (2004) relata que com o progresso da doença, a planta sofre o secamento do ramo principal tanto para cima quanto para baixo, no entanto, a base da planta e o seu sistema radicular permanecem saudáveis.

O agente causal da fusariose ou podridão-das-raízes da pimenta-do-reino é o fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis* forma anamórfica que pertence a ordem *Tuberculariales* e família *Tuberculariaceae*. O anamórfico produz três tipos de esporos, microconídios hialinos, unicelulares, elípticos ou alantoides, macroconídios falcados, hialinos apresentando de três a cinco septos e os conídios intermediários, formados em conidióforos. Os clamidósporos são esporos de resistência, que desempenham uma grande importância na sobrevivência e na disseminação do patógeno para outras áreas (ALBUQUERQUE, FERRAZ, 1976; LESLIE,

SUMMERELL, 2007). O fungo possui hifas septadas, hialinas com formação de longas fiáldes (TREMACOLDI, 2010).

Na forma teleomórfica, a doença é causada por *Nectria haematococca* Berk & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque, um ascomiceto que pertence à ordem *Hypocreales* e a família *Nectriaceae* (DUARTE, 1999). Segundo Albuquerque et al. (2001), a fase sexual foi identificada através de estudos de compatibilidade sexual de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. A fase sexual do fungo ocorre raramente no meio ambiente, produz peritécios arredondados ou piriformes de forma isolada ou agregada, avermelhados, com superfície externa rugosa apresentando consistência gelatinosa. Na parte interna dos peritécios são formados os ascos, a qual comporta oito ascósporos bicelulados, sendo que cada célula dos ascósporos são uninucleadas e ambos os núcleos são geneticamente iguais, além de apresentar uma superfície estriada com uma pequena constrição à altura do septo central.

Umidade relativa elevada favorece a produção de conídios sobre os tecidos infectados das raízes e ramos. Duarte (1999) e Tremacoldi (2010), relatam que a disseminação e a multiplicação do patógeno são favorecidas em período chuvoso. Na época chuvosa as plantas não apresentam sintomas visíveis, no entanto, é neste período que ocorre as infecções do fungo nas raízes e nos ramos da parte aérea das pimenteiras-do-reino, exibindo-se os sintomas característicos da doença durante a estação seca (DUARTE, 1999). Duarte (1999), destaca que nas estações mais secas, o número de plantas com os sintomas da doença aumenta gradativamente. O excesso de umidade do solo, adubos nitrogenados e estresse hídrico propiciam a doença (CAVALCANTE, 2005). Algumas lavouras mais velhas constituem importantes focos de disseminação do patógeno, ocasionando infecções nas novas plantações. Conforme Scherm; Yang (1996), temperaturas do solo em torno de 15 °C contribuem para sintomas em raízes, enquanto temperaturas de 22 a 24 °C favorecem os sintomas de parte aérea.

De acordo com Duarte et al. (2005), solos com problema de drenagem favorecem a doença, causando mais danos para as pimenteiras, principalmente em cultivos mal conduzidos. A fusariose tem seu início na área em pequenas reboleiras, que avançam podendo tornar o pimental inviável para a produção (VENTURA; COSTA, 2004).

A penetração do fungo no sistema radicular é favorecido pelas relações entre os fatores abióticos e bióticos. Em contato com as raízes da planta os esporos germinam, o micélio penetra diretamente nos tecidos da epiderme ou por ferimentos causados por *M. incognita* e por outros microrganismos presentes na rizosfera. A disseminação dos esporos que são formados nos

ramos infectados ocorre pelo vento iniciando as infecções secundárias (ALBUQUERQUE, 1980). Nas épocas mais úmidas, nos tecidos apodrecidos da planta formam-se peritécios, que internamente formam os ascósporos, importantes na disseminação aérea do patógeno nas áreas de cultivo, além de formar massas esbranquiçadas de esporos nos tecidos mortos (DUARTE, 1999; VENTURA; COSTA, 2004). Na fase saprofítica são formados os macro e microconídios e clamidósporos, que são disseminados pelo vento e água. Os clamidósporos podem permanecer por vários anos viáveis no solo, podendo iniciar as infecções no sistema radicular ao encontrar condições ambientais favoráveis. De acordo com Pfenning; Lima (2007), os clamidósporos, estruturas de resistências do patógeno formado em um ambiente adverso podem permanecer viáveis por mais de 20 anos.

Para que ocorram epidemias de fusariose em pimenta-do-reino é necessário a presença de fontes primárias de infecção. Observações de campo têm mostrado que a doença pode iniciar nos pimentais de três modos diferentes; a) nos pimentais novos, formados com estacas sadias e plantados bem distantes de pimentais doentes, a doença começa a surgir no sistema radicular após 12 a 15 anos, em pimenteiras dispersas pela plantação e com o aumento da população o patógeno pode se disseminar pela parte aérea; b) nas plantações novas, instaladas em áreas isoladas, porém formadas com estacas retiradas de pimenteiras infectadas, a doença pode adquirir caráter epidêmico, quatro a cinco anos após o plantio, sugerindo que estruturas do fungo em estado latente nos tecidos de pimenteiras jovens tornam-se fontes primárias de inóculo, ao encontrarem condições favoráveis de desenvolvimento; e, c) epidemias precoces podem também se estabelecer em pimentais originados de estacas sadias, porém instalados próximos a culturas de pimenta-do-reino infectadas pela fusariose aérea (DUARTE, 1999, p. 168).

### **2.3 Manejo da fusariose**

O controle da doença em condições de campo é o principal problema enfrentado pelos produtores de pimenta-do-reino em todas as regiões produtoras do estado brasileiro. De acordo com Michereff et al. (2005 apud Santos, 2010), patógenos que vivem em ambiente subterrâneo são altamente adaptados em associação com o hospedeiro, tornando o controle muito difícil.

Segundo Rocha Neto (2013), apesar de não haver nenhuma medida eficiente para o controle da doença, algumas orientações preventivas são necessárias para amenizar os danos causados. Portanto, recomenda-se o uso de estacas ou mudas de plantas sadias ou mudas de viveiristas credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA); controle da qualidade das estacas de propagação; evitar reutilizar tutores de áreas onde há a presença da doença; não realizar o plantio em áreas onde houve histórico da doença; tratar o material vegetal com produto químico e após a emissão da brotação (15 dias de antecedência do transplantio das mudas no campo) aplicar uma solução aquosa dos fungicidas tiabendazol

ou carbendazin (1 g/L por 30 minutos); nas capinas e outros tratamentos culturais deve-se evitar ferimentos nas raízes próximas às camadas superficiais do solo e manter a cobertura vegetal nas entrelinhas (TRINDADE; POLTRONIERI, 1997; VENTURA; COSTA, 2004; TREMACOLDI, 2010). Para o controle da fusariose na parte aérea é necessário realizar inspeções periódicas na lavoura, podar as plantas com sintomas da doença e em seguida fazer aplicação com fungicida. No entanto, se o índice de infecção atingir 15%, o controle não é mais eficiente, neste caso o mais recomendado é arrancar e queimar as plantas doentes, para reduzir as perdas causadas pela doença (VENTURA; COSTA, 2004).

Em condições de campo, o controle da doença é limitado, pois não há cultivar resistente e nem um fungicida efetivo ou oficialmente aprovado no Brasil (D'ADDAZIO et al., 2016). Conforme esses autores, vários estudos *in vitro* vêm sendo realizados para identificar produtos que possam controlar o fungo. As medidas recomendadas para o controle da fusariose mais usadas na pipericultura vêm se mostrando onerosas ou pouco eficientes. Daí a necessidade de novos métodos de controle, entre quais o controle com produtos naturais e aplicação de resíduos orgânicos.

### **2.3.1 Uso de óleos essenciais e extratos vegetais no controle de doenças de plantas**

O uso de produtos químicos na agricultura para o controle de doenças de plantas, pragas agrícolas, plantas daninhas vem sendo questionado pela sociedade, devido aos diversos problemas gerados para a saúde humana e ao meio ambiente, pelo uso de doses excessivas ou de forma inadequada dos produtos químicos (GURJAR et al., 2012). Segundo Morandi; Bettiol (2008), as consequências das práticas agrícolas no ambiente e a contaminação com produtos químicos vêm mudando o cenário da produção agrícola, resultando na presença de segmentos de mercado que visam à aquisição de produtos diferenciados, tais como o desenvolvimento de sistemas de cultivos mais sustentáveis que vêm estimulando a busca por novas medidas de proteção das plantas contra as doenças (FERREIRA, 2013).

De acordo com Garcia et al. (2012), a busca por métodos alternativos, que sejam eficientes no controle de doenças de plantas e capazes de reduzir impactos ao meio ambiente, é fundamental. Bernardo et al. (2002); Carneiro et al. (2007); Souza et al. (2007); Venturoso et al., (2011) já cogitavam a utilização de extratos vegetais e óleos essenciais como um dos métodos de controle alternativo de doenças de plantas nos sistemas agrícolas.

Esses novos métodos alternativos para a proteção de plantas tem ganhado atenção mundial e os principais focos das pesquisas estão no estudo das propriedades químicas que essas plantas apresentam em sua composição com potencial fungicida ou fungistático que as tornam eficientes no controle de fitopatógenos (BARROS et al., 2013; TOMAZONI et al., 2013; SANTOS, 2014).

A ação fungitóxica dos produtos naturais tanto atuam diretamente no patógeno, causando desaceleramento do crescimento micelial, reduzindo a esporulação e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas indicando a presença de compostos de características elicitores (CARVALHO, 2010; VENTUROSO et al., 2011; GARCIA et al., 2012). Uma das vantagens de se utilizar os produtos naturais na agricultura é devido a rápida degradação no ambiente e sua baixa toxicidade (GHINI; KIMATI, 2000). Conforme Amorim et al., (2011), os extratos vegetais e os óleos essenciais podem minimizar o surgimento de microrganismos resistentes e a contaminação do meio ambiente.

Segundo Amandioha (2000) e Morandi; Bettiol (2009), os extratos vegetais são fontes inesgotáveis de moléculas, muitas delas desconhecidas, servindo de modelo para síntese química, com geração de produtos de baixo custo, de fácil aquisição e uma alternativa para países em desenvolvimento, onde os fungicidas sintéticos são escassos e representam um alto custo aos produtores. De acordo com Diniz et al. (2006), os extratos apresentam em sua composição várias moléculas complexas, destacando-se compostos fenólicos, terpenóides e alcaloides que são sintetizados pelo metabolismo secundários das plantas, importantes para as relações ecológicas. Os extratos de plantas apresentam atividade elicitoras, causando reações de defesa da planta contra fitopatógenos (TALAMINI; STANDINIK, 2004). As reações induz a resistência ao patógeno nas plantas hospedeiras (LINDSEY; STADEN, 2004). Standinik; Maraschin (2004) relatam que os extratos podem apresentar ação direta, já que possuem substâncias tóxicas para os fungos, e apresentam um grande potencial para a produção de fungicidas naturais menos agressivo ao meio ambiente.

Conforme Bakkali et al. (2008); Scherer et al. (2009); Morais (2009), Castro et al., 2010; Gilles et al., 2010, os óleos essenciais naturais são compostos orgânicos complexos voláteis formados, principalmente, por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, com baixo peso molecular e apresentam um forte odor agradável caracterizados por plantas aromáticas. São encontrados em várias partes das plantas, como folhas, flores, cascas ou frutos, caules, sementes, raízes, que apresentam propriedades químicas diferentes, sendo obtidos do



metabolismo secundário das plantas, desempenhando um papel fundamental na proteção de plantas com ação inseticida, bactericida e fungicida.

Esses efeitos de proteção aos microrganismos, deve-se as suas propriedades químicas presentes em suas moléculas, e sua característica lipofílica, aliada com a hidrofobicidade que permite a interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular e interferência na permeabilidade, provocando alterações nas estruturas dos microrganismos (BAKKALI et al., 2008; COSTA et al., 2011). O óleo essencial em contato com o fungo promove a inibição de seu crescimento micelial, muda a composição da parede celular, causando a destruição de membranas plasmáticas e uma desorganização na estrutura mitocondrial do patógeno, entre outras características (KSHORE; PANDE, 2007). Zambonelli et al. (1996); Costa et al. (2011) e Dos santos et al. (2013) afirmam que a ação antifúngica dos óleos essenciais testados, revelaram que ocorre a penetração de quitina nas paredes das hifas, prejudicando a camada de lipoproteína da membrana citoplasmática, ocasionando a saída do citoplasma e o murchamento de hifas.

Diversas pesquisas vêm sendo realizadas com a utilização de óleos essenciais no controle de vários fitopatógenos na agricultura e vem apresentando resultados promissores, sendo por ação antimicrobiana como a indução de resistência (FRANCO; BETTIOL, 2000; BENATO et al., 2002; PEREIRA et al., 2012; AMINI et al., 2012; MAIA et al., 2014).

Lustosa et al. (2011), revelaram que os óleos essenciais de copaíba e eucalipto apresentam atividades fungitóxicas contra diversos fitopatógenos. O principal componente do óleo de eucalipto é o monoterpeneo 1,8-cineol ou eucaliptol, outro componente é a piperitona que é utilizada para síntese de timol e mentol, que ambos são usados como flavorizante como aditivos em preparações medicinais e na síntese de fungicidas (VITURRO et al., 2003; FIGUEIREDO et al., 2013). De acordo com Bonaldo (2007), a atividade fungitóxica do óleo de eucalipto citriodora controlou os fungos *S. rolfsii*, *Phytophthora* sp., *R. solani* e *A. alternata* e também promoveu a ativação dos mecanismos naturais da planta de sorgo.

A atividades fungitóxicas do óleo essencial de copaíba é devida a presença de diprtenos (ácido copálico) e do ácido caurenóico (VEIGA et al., 1997; LAMEIRA, 2007). De acordo com Oliveira et al. (2006), o óleo de copaíba é formado por diversas substâncias, destacando-se em sua composição química  $\beta$ -bisaboleno e  $\beta$ -cariofileno. Estes sesquiterpenos apresentam atividades antifúngicas, o que permite que o óleo seja utilizado no controle de fitopatógenos (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

O nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) é uma planta pertencente à família Meliaceae, conhecido pelos indianos como uma planta medicinal que é amplamente usada no controle de insetos e fungos. Conforme Martinez (2002), a ação fungitóxica do nim contra fitopatógenos é devido a substância azadiractina formada por um complexo tetranotriterpenóides, encontrados principalmente nas sementes, sendo solúvel em água e eliminado no ambiente em até 20 dias. De acordo com Medice et al. (2007) e Dias-Arieira et al. (2010), o óleo de nim promove o controle de alguns fitopatógenos devido ao seu efeito fungistático ou inibitório.

O alho (*Allium sativum* L.) é uma planta pertencente à família Liliaceae, espécie amplamente estudada e utilizada no controle de fitopatógenos. Segundo Vieira (1992) e Wu et al. (1996) o alho é composto por diversas substâncias, composto pelos principais princípios ativos alicina, aliina, alinase, alitiamina, sulfeto de alilo, alilglucósio, óxido dialila dissulfeto, alinase, alitiamina, sulfuretos, hormônios, resinas e os compostos isoticiânico, inulina, nicotinamina e galantamina. A capacidade fungitóxica do extrato e do óleo de alho é devido ao componente alicina e também pelo odor característico do alho. Conforme Amagase et al. (2001), por apresentar alta instabilidade, a ação antimicrobiana do alho é questionada em trabalhos *in vivo*. A ação fungitóxica da alicina são observados em diversas pesquisas a vários fungos fitopatogênicos (SOVOVA, 2002; PARK et al., 2005; SLUSARENKO; PATEL; PORTZ, 2008; VENTUROSO, 2009; LEITE et al., 2012).

De acordo com Torres et al. (2005), os compostos fenólicos encontrados no endosperma líquido do coqueiro (*Cocos nicifera* L.) são metabólitos secundários que apresentam efeitos antimicrobiano a vários microrganismos. No entanto, existe poucos trabalhos na literatura relatando o uso de óleo de coco no controle de fungos fitopatogênicos. Segundo Sousa et al. (2012), o óleo de coco na concentração de 1% inibiu o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gloesporioides* em 73,67% na cultura da pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*). O óleo de coco inibiu 50% do crescimento micelial de *C. gloesporioides* na cultura do maracujá, apresentando potencial fungitóxico sobre o patógeno (DE ABREU et al., 2014).

Segundo Freire (2006), o óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) pertencente à família Lamiaceae, vem promovendo resultados positivos no controle de fitopatógenos por conta de sua composição química, que é formada por vários compostos, sendo o mentol o principal componente. O óleo essencial de hortelã-pimenta apresentou efeito antifúngico, inibindo o crescimento micelial dos fungos, *Aspergillus flavus*, *A. ochraceous*, *A.*

*niger*, *A. glaucus*, *Fusarium oxysporum*, *F. semitectum*, *Colletotrichum musae*, *C. gloeosporioides* (FREIRE, 2006).

O extrato de coentro (*Coriandrum sativum* L.) vem sendo estudado devido à presença de princípio ativo com propriedade antifúngicas. De acordo com Bizzo et al. (2009) e Rentschler (2014), o óleo das sementes de coentro é formada por várias substâncias, sendo a principal o D-linalol e seguido em menores proporções de acetato de geranilo, geraniol, borneol, alcanfor, alfa-terpineol, óxido de linaeol e nerol. Esses compostos possuem ação fungitóxica a vários fungos, sendo eficiente na inibição do crescimento micelial de *Cladosporium cucumerinum* Ellis & Arthur e *Fusarium culmorum* (Wm. G. Smith) Sacc. (DELGADO, 1993).

O extrato de melão-de-são caetano (*Mormodica charantia* L.), vem apresentando resultados eficientes no controle de doenças de plantas causados por fitopatógenos. Segundo Torres et al. (2002), o extrato de *M. charantia* é composto por várias substâncias bioativas, como alcaloides, flavonoides, saponinas, glicosídeos, constituintes fenólicos, ácidos livres, que possuem ação antifúngica, inseticida e bactericida dentre outras atividades. Ação antifúngica do extrato de melão-de-são caetano é demonstrado em vários trabalhos. Celoto et al. (2011), utilizando extrato aquoso e metanólico de *M. charantia*, obteve um percentual de inibição de 80% das lesões da antracnose nos frutos de bananas. Feitosa et al. (2008), observaram que o melão-de-são caetano apresentou resultados positivos no controle de *Clostridium* sp. patógeno de pós-colheita. Conforme Medeiros et al. (2013), o extrato de melão-de-são caetano reduziu a incidência de fungos dos gêneros *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Alternaria* sp., em sementes de *Pterogyne nitens*. O extrato de melão-de-são caetano obteve eficiência no controle *Fusarium* sp. e *Cladosporium* sp. em sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) (LEITE et al., 2011).

A mamona (*Ricinus communis* L.) pertencente à família da Euphorbiaceae, é uma planta oleaginosa arbustiva. A composição química do óleo e do extrato vegetal, é composto principalmente por ricina, molécula mais tóxica e mais estudada. A atividade fungitóxica do extrato aquoso de folhas de mamona é evidenciado em alguns trabalhos, apresentando efeito inibitório contra vários patógenos foliares quanto de solos (RIBEIRO; BEDENDO, 1999; CASTRO et al., 2005; CASTRO et al., 2006; SILVEIRA, 2006; SILVA JÚNIOR et al., 2007; SILVA JÚNIOR et al., 2009).

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta perene, arbustiva, pertencente à família Euforbiaceae, sendo uma importante cultura agrícola para a alimentação humana e

animal. De acordo com Nassar et al. (2007), as folhas de mandioca apresentam elevada concentração de  $\beta$ -caroteno, proteínas e minerais. As folhas da planta também possuem algumas substâncias tóxicas como cianeto, compostos fenólicos, nitrato, ácido oxálico, saponinas, hemaglutinina e inibidores de tripsina, que dependendo de sua concentração pode provocar efeitos tóxicos (MELO et al., 2007). Segundo Ponte (1999), o cianeto possui atividades nematocidas, inseticidas, enquanto os outros compostos exercem atividades antifúngicas. Vale ressaltar que trabalhos com extratos de folhas de mandioca no controle de fungos fitopatogênicos são escassos na literatura.

O extrato de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) vem sendo utilizado no controle de fitopatógenos e de insetos pragas na agricultura devido a vários compostos químicos, destacando-se a isobutilamida, piperidina e pirrolidina. Além de lignanas, neolignanas e seus precursores, flavonóides, kawalactonas, butenólidos e epóxidos de ciclohexano, sendo a piperina a principal substância estudada por suas propriedades inseticidas e fungicidas (SENGUPTA; RAY, 1987). A atividade antifúngica do extrato de *Piper nigrum* no controle de doença de plantas foram comprovados em algumas espécies de fungos: Barros et al. (2013), verificaram que o extrato de pimenta-do-reino teve eficácia nas concentrações a partir de 10%, na concentração de 30% proporcionou um percentual de 42% de controle de *Fusarium verticillioides* e 32% de *Acremonium sp.* Barros (2015), afirma que o extrato aquoso de pimenta-do-reino foi eficiente no controle de *Cladosporium cladosporioides*, *Bipolaris sorokiniana* e *Fusarium graminearum* na cultura do trigo. Dias et al. (2016) obteve um percentual de 43,25% de controle de *Lasioidiplodia theobromae* in vitro.

### **2.3.2 Resíduos orgânicos no controle de doenças radiculares**

A utilização de fontes de matéria orgânica surge como uma alternativa no manejo aos principais fungos fitopatogênicos habitantes do solo.

De acordo com Nascimento Júnior (2015), a decomposição da matéria orgânica e a reciclagem de nutrientes é decorrente das interações biológicas e das reações físico-químicas que ocorre no solo. A adição de resíduos orgânicos ao solo provocam alterações físicas, químicas e biológicas, além do fornecimento de nutrientes, que conseqüentemente pode induzir a supressividade do solo aos patógenos subterrâneos, e podem gerar compostos capazes de controlar diversos fungos fitopatogênicos e auxiliar a sobrevivência de agentes de biocontrole (FORNER, 2016). Segundo Cruz et al. (2013) e Galletti (2015), a incorporação de resíduos

vegetais ao solo, favorece o aumento da flora microbiana, atividade antagônica aos microrganismos fitopatogênicos, contribuindo para a supressividade do solo e pode melhorar a resistência das plantas as doenças. Os microrganismos presentes no solo afetam as propriedades química, física e biológica e contribui para diversas funções metabólicas nas fases de desenvolvimento das plantas (GREEN et al., 2006).

Para Blok et al. (2000), novos métodos como a adição de matéria orgânica se constitui uma alternativa viável para o controle de doenças radiculares, que através da supressividade aos fitopatógenos vem controlando uma gama de fungos de solos e se tornando uma das práticas muito utilizada na agricultura.

A condição de supressividade é determinadas por vários fatores bióticos e abióticos. Entre os fatores bióticos destacam-se os microrganismos (fungos, bactérias, microartrópodes, minhocas, etc. Características físico-químicas do solo, tais como textura do solo, ponto hidrogeniônico (pH), tipo de matéria orgânica, relação carbono/nitrogênio (C/N), nutrientes, umidade, densidade, capacidade de retenção de água, dentre outras, destacam-se entre os fatores abióticos, que pode atuar de forma direta ou indireta sobre os patógenos radiculares, interferindo no seu desenvolvimento a curto e a longo prazo (HORNBY, 1983; BETTIOL; GHINI, 2005).

Segundo Baker; Cook (1974), com o ambiente supressivo no solo a população de patógenos tende a não se estabelecer ou se estabelecer causa a doença, no entanto, essa doença tende a sofrer um declínio no decorrer do tempo. De acordo com Ghini et al. (2001), esse ambiente supressivo causa a supressão da doença devido principalmente a fatores bióticos e abióticos, mesmo havendo a inter-relação entre o hospedeiro suscetível e o patógeno.

A incorporação de matéria orgânica (M.O) no solo pode influenciar a supressividade, pois provoca várias modificações tanto na fertilidade como nas relações entre os microrganismos, aumentando na competição entre eles, afetando o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos (NASCIMENTO JÚNIOR, 2015). O equilíbrio da microfauna, proporcionado pela incorporação da matéria orgânica no solo ajuda a potencializar o controle de doenças radiculares, desenvolvendo plantas mais saudáveis e resistentes (ZAMBERLAN; FRONCHETI, 2002). Bettiol et al. (2009); Elad et al. (2010) e Shahat et al. (2011) afirmam que a decomposição da matéria orgânica no solo há formação de determinadas substâncias que controlam diretamente os fungos do solo e também pode ativar a resistência das plantas.

Conforme Café Filho; Lobo Junior (2000), para obter maiores chances de controle das doenças é necessário observar os seguintes fatores como: a complexidade do solo, as estratégias de sobrevivência dos fungos neste sistema, a dinâmica das populações dos microrganismos e a epidemiologia da doença em habitat causal. De acordo com Pereira et al. (1996), a utilização de resíduos orgânicos na supressão da doença e na redução dos níveis populacionais dos fitopatógenos está diretamente relacionado com suas ações e com as interações existentes entre solo-patógeno-hospedeiro, aliados também as dinâmicas associadas a composição físico-química e biológica de cada resíduo orgânico. A redução das fontes de inóculo que estão presentes na rizosfera é devido aos mecanismos de ação atribuídos por antibiose, hiperparasitismo, predação, dentre outros existentes entre os microrganismos, destacando-se os fungos fitopatogênicos e seus antagonistas (HARAN et al., 1996; GHINI et al, 2001).

Para Nascimento Júnior (2015, p. 26):

Para utilização de resíduos orgânicos no controle de doenças faz-se necessário realizar bioensaios *in vitro* para observação de algumas características relacionadas com condições específicas que proporcionem estímulo ou inibição em um ambiente controlado. A natureza dessa condição pode ser físico-químico ou biológica, que podem variar em função dos meios de cultura, luminosidade, extratos adicionados ao meio, antagonistas e competidores interferindo direto ou indiretamente sobre o patógeno, principalmente no seu crescimento micelial e na produção de esporos.

A eficiência dos resíduos orgânicos no controle de doenças radiculares, vem sendo comprovada por diversos trabalhos, tornando uma alternativa de manejo viável e de baixo custo para os produtores rurais: Veras (2006) afirma que a casca de mandioca na dosagem de 100 g.Kg<sup>-1</sup> com uma relação C/N de 9:1 e de nim na concentração de 20 g.Kg<sup>-1</sup> proporcionou uma maior supressividade da doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em quiabeiro. Veras et al. (2007), avaliaram que a incorporação de bagaço de coco babaçu ao solo na concentração de 20 g.Kg<sup>-1</sup>, proporcionou a supressividade da fusariose na cultura do quiabo, devido aos altos níveis nutricionais e as atividades dos microrganismos. Ferreira et al. (2009), verificaram que a incorporação de nim na concentração de 20 g.Kg<sup>-1</sup> no solo, apresentou eficiência no controle da fusariose em maracujá amarelo, Em tomateiro, Wong et al. (2011) verificaram que a incorporação de folhas de mandioca na concentração de 25 g.Kg<sup>-1</sup> com uma relação C/N de 21:1, possibilitou o controle da murcha-de-fusário, através da liberação dos compostos orgânicos voláteis oriundos da decomposição da mandioca. Ferreira et al. (2015), estudando a fusariose do maracujazeiro amarelo confirmaram que a incorporação de resíduos orgânicos de bagaço da casca de coco babaçu (80 g.Kg<sup>-1</sup>) e a casca de mandioca (60 g.Kg<sup>-1</sup>) foram eficientes no controle da doença.

Em maracujazeiro amarelo, Ferreira (2015) avaliando diferentes resíduos orgânicos, entre eles as folhas de eucalipto nas concentrações de 0-20-40-60-80-100 g.Kg<sup>-1</sup>, verificou que nenhuma das doses testadas foram significativas no controle da murcha de fusário em casa de vegetação.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Local de execução dos experimentos**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação (Telado) no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) – Campus Delza Gitaí, em Rio Largo - AL, durante o período de Junho de 2016 a Junho de 2017.

#### **3.2 Obtenção e preservação do isolado**

O isolado de *Fusarium solani* utilizado nos experimentos foi obtido, a partir de plantas de pimenta-do-reino com sintomas característicos da fusariose, coletada em uma unidade produtora de pimenta-do-reino, localizada no município de Atalaia em fevereiro de 2016.

Realizou-se o isolamento do microrganismo, através da retirada de pequenos cortes na área de transição entre o tecido sadio e doente no colo e na raiz da planta, que foram desinfestados em álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio 2% por 1 min e lavados em água destilada esterilizada (ADE), logo após secos em papel toalha autoclavado, colocados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata – 200 g; Dextrose – 20 g; Ágar – 18 g e água destilada – 1000 mL) e incubados a temperatura ambiente, até o crescimento do fungo. Depois de sete dias, constatado o crescimento da colônia fúngica, foram retirados discos de micélio (5 mm) e transferidos para outra placa de Petri em meio BDA, para obter a cultura pura. Em seguida, o isolado foi preservado pelo método Castellani em temperatura ambiente.

#### **3.3 Teste de patogenicidade e reisolamento do microrganismo**

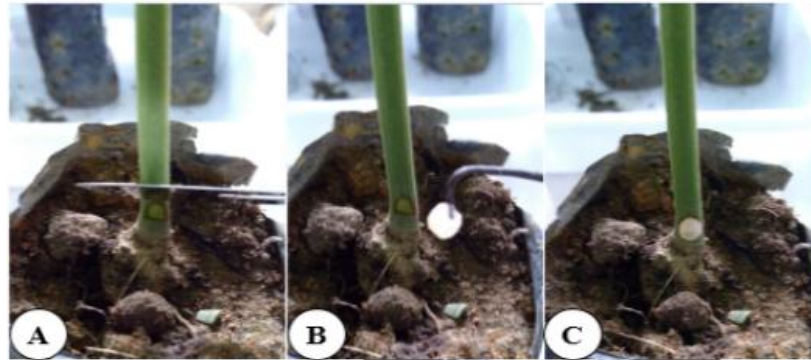
O teste de patogenicidade do isolado foi realizado em mudas de pimenta-do-reino com quatro meses de idade através de dois métodos de inoculação: deposição de disco de inóculo sobre o caule da planta e por suspensão de inóculo.

No primeiro método foi realizado um pequeno corte transversal no caule de 10 mudas de pimenta-do-reino, seguida da inserção do disco de BDA com 5 mm de diâmetro contendo micélio do fungo no entrenó do caule da muda (Figura 2) e para a fixação do disco de inóculo



foi colocada uma fita plástica transparente. A testemunha recebeu apenas disco de BDA sem o fungo. As mudas de pimenta-do-reino inoculadas com o patógeno foram submetidas a câmara úmida por 48 h.

Figura 2 - Etapas do procedimento do teste de patogenicidade em muda de pimenta-do-reino. Corte no caule da planta (A); disco de micélio do patógeno com 5 mm de diâmetro (B); inserção do disco no caule da planta (C).

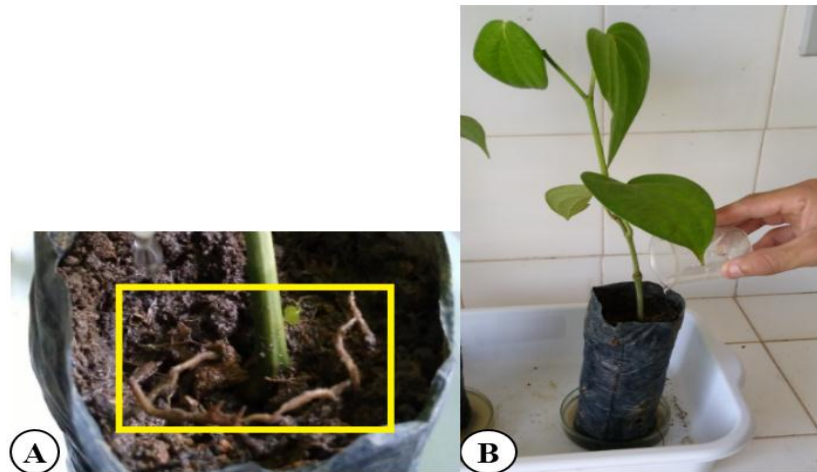


Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

No segundo método, o ferimento foi realizado através de uma raspagem superficial nas raízes das plantas com o auxílio de um estilete. Em seguida, foram adicionados 20 mL da suspensão de conídios ( $1 \times 10^6$  con.mL<sup>-1</sup>) em cada planta (Figura 3).

Em ambos os métodos as plantas foram incubadas por 20 dias, sendo realizadas quatro observações para verificar os sintomas de doença. As plantas que apresentaram sintomas típicos da doença foram utilizadas para o reisolamento do patógeno em placas de Petri contendo meio BDA, sob condições ambientais, para comprovar a patogenicidade, completando os postulados de Koch.

Figura 3 - Teste de patogenicidade pelo método fermento das raízes. Ferimento no sistema radicular da planta (A); Deposição de 20 mL da solução de conídios na planta (B).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

### 3.4 Identificação do patógeno

#### 3.4.1 Caracterização morfológica

A partir da cultura pura foi realizado a identificação através de microculturas, de acordo com a metodologia proposta por MENEZES; ASSIS (2004). Após sete dias, foram feitas observações em lâminas para identificar as estruturas dos isolados.

A identificação foi realizada com base nas características morfológicas em microscópio óptico. As medições das estruturas propagativas foram realizadas através de imagens capturadas por câmera digital (Olympus IX2-SLP) acoplada ao microscópio óptico com aumento de 400x, projetada em monitor de computador, através do software Cellsenses Standard (SAMSUNG SDC-415®). Foram efetuadas 50 medições de cada tipo de estrutura produzida.

#### 3.4.2 Caracterização molecular

O DNA total foi extraído a partir do isolado, segundo protocolo CTAB descrito por DOYLE; DOYLE (1987), o qual foi utilizado como template para amplificação (via PCR) utilizando o gene que amplifica para Elongation Factor ( $EF1-\alpha$ ), utilizando os pares 728F/986R (CARBONE; KOHN, 1999). Os produtos de PCR foram sequenciados comercialmente pela Macrogen Inc. (Seul, Coreia do Sul).

As sequências obtidas foram analisadas com o algoritmo BLAST $n$  (ALTSCHUL et al., 1990) e o banco de dados não-redundantes GenBank.

### **3.5 Manejo da doença**

#### **3.5.1 Obtenção das mudas, extratos vegetais e óleos essenciais**

As mudas de pimenta-do-reino foram adquiridas na propriedade Terra & Água Fidelis e Nonô - Consult. Agroambiental LTDA, localizada no município de Pilar - AL.

Os produtos vegetais foram selecionados e adquiridos em diferentes localidades: as folhas de melão-de-são caetano, mamona e mandioca foram coletadas no CECA/UFAL. As folhas de pimenta-do-reino foram coletadas na unidade produtora (Atalaia-AL) e as folhas de coentro foram adquiridas na feira municipal.

Para preparar os extratos brutos aquosos (EBA), todos os materiais vegetais coletados foram secos em estufa a 55 °C por quatro dias até atingir a massa constante. Após a secagem foram triturados em moinho, para obter o pó ou pequenas frações dos fragmentos das folhas dos vegetais. A proporção 1:9 (peso/volume) foi usada para obtenção do EB, colocando-se 20 g do pó dos extratos vegetais para cada 180 mL de água destilada esterilizada (ADE), em uma temperatura variando de 55 a 60 °C por 3 min, logo em seguida o líquido foi filtrado em gaze tripla esterilizada e levados para a câmara de fluxo laminar, permanecendo por 1 hora na U.V, sendo usados imediatamente nos experimentos, de acordo com a metodologia proposta por SILVA (2016).

Os óleos essenciais de eucalipto, copaíba, hortelã e alho foram adquiridos de forma comercial, produzido por ERVA DOCE & DOCE ERVA (Amorim Flora, Maceió – AL, Brasil). O óleo de nim foi adquirido de forma comercial, produzido por Vitaplan (NUTRIPLAST Ind. e Com. Ltda., Santa Catarina - SC). O óleo de coco foi adquirido também de forma comercial, produzido pela empresa COPRA (Copra Indústria Alimentícia Ltda., Maceió - AL).

#### **3.5.2 Obtenção dos resíduos orgânicos vegetais**

Os materiais vegetais utilizados no experimento foram coletados em diferentes localidades segundo as peculiaridades de cada espécie: as cascas de mandioca, as folhas de

eucalipto, as cascas de coco e as folhas de pimenta-do-reino em Atalaia –AL e as folhas de nim em Rio Largo (CECA/UFAL).

Todos os materiais vegetais foram secos em estufa de ventilação forçada a  $65\pm 2$  °C por 72-96 h, logo após a secagem foram passados no triturador forrageiro e armazenados em sacolas plásticas em local seco e arejado.

### **3.5.3 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani***

Foram realizados dois experimentos, um com extratos vegetais e outro com óleos essenciais. Para os extratos vegetais, foram testados folhas de pimenta-do-reino, mandioca, mamona, coentro e melão-de-são caetano, nas concentrações de 5, 10, 15 e 20% (v/v) e mais o fungicida (Carbendazim) na dosagem recomendada (0,2 g/mL). A testemunha foi constituída apenas pela inoculação do disco de inóculo em placas com meio BDA. O extrato bruto aquoso (EBA) de cada material vegetal foi misturado ao meio de cultura BDA fundente com aproximadamente 45 °C, em seguida vertidos em placas de Petri (90 mm de diâmetro). Após essa etapa, no centro das placas foram depositados discos de micélio do fitopatógeno (5 mm) com 10 dias de idade, seguida da incubação a temperatura ambiente. No período de onze dias, em que a testemunha atingiu toda placa, foi avaliado o crescimento micelial, medindo-se diariamente em dois sentidos diametralmente opostos com o auxílio de um paquímetro digital de fibra de carbono (Western® 6” 150 mm).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial  $(5 \times 4) + 2$ , representado por cinco extratos bruto aquoso (EBA) e quatro concentrações, totalizando 22 tratamentos com 6 repetições, sendo que cada repetição foi constituída por uma placa de Petri.

No experimento com óleos essenciais, foram utilizados óleos de nim, eucalipto, hortelã, copaíba, alho e coco, nas dosagens de 25, 50, 75, 100  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$  mais o fungicida Carbendazim (0,2 g/mL). A testemunha foi constituída somente por inoculação de disco do inóculo em placas com meio BDA. A metodologia adotada foi a mesma do experimento anterior. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial  $(6 \times 4) + 2$ , representado por seis óleos essenciais e quatro doses, totalizando 26 tratamentos com 6 repetições.

Os dados originais dos dois experimentos foram submetidos a análise de variância e de regressão e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O programa estatístico usado nas análises foi o ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2016).

Nos dois experimentos tanto os extratos vegetais como os óleos essenciais foram avaliados o crescimento micelial, para determinar a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC%), utilizando a fórmula proposta por Edginton et al. (1971), (Eq. 1):

$$\text{PIC (\%)} = \frac{\text{Crescimento da Testemunha} - \text{Crescimento do Tratamento}}{\text{Crescimento da Testemunha}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

O modo de ação dos produtos testados foi avaliado através da transferência dos discos de inóculo, que não apresentaram crescimento micelial, para placas de Petri contendo BDA, sem a presença do agente inibidor e incubadas a temperatura ambiente. Após 120 h foi avaliado quanto a presença ou não de crescimento micelial do fungo.

### **3.5.4 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o controle da fusariose em mudas de pimenta-do-reino**

O experimento foi realizado em casa de vegetação, utilizando-se mudas de pimenta-do-reino com seis meses de idade a partir dos melhores resultados dos tratamentos “*in vitro*” (Figura 4). As mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 1 L, contendo solo mais o substrato na proporção 1:4 (v/v), previamente autoclavado (1 atm, 120 °C por 2 h) e inoculadas com o patógeno, através da técnica de deposição de disco de micélio (5 mm) em ferimentos realizados com um pequeno corte transversal, no caule das mudas, com o auxílio de um bisturi. Dez dias após a inoculação, as mudas foram tratadas em intervalos de oito dias com cinco aplicações dos produtos (extratos vegetais de folhas melão-de-são caetano e mandioca nas concentrações de 10 e 15% e óleos essenciais de nim e hortelã nas concentrações de 50 e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ). Foram utilizados 20 mL por planta, sendo adicionados 0,1 mL do espalhante adesivo Tween 20 (polioxyethylene sobitan mono-oleate, da marca Vetec) para cada 100 mL da solução, antes das pulverizações. As aplicações foram realizadas com pulverizador manual de pressão, espalhando os produtos até o ponto de escorrimento na superfície das folhas (Figura

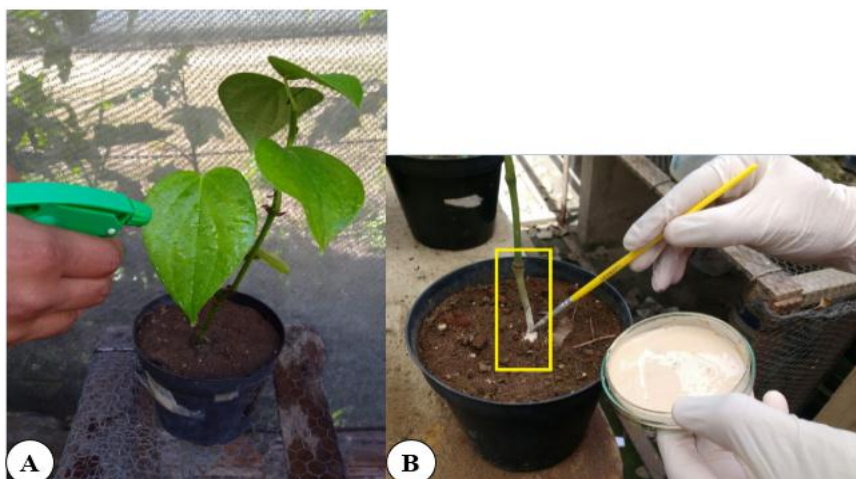
5A). A testemunha recebeu apenas discos de micélio do patógeno. Para o tratamento das mudas com o fungicida (Carbendazim 0,2 g/100 mL) foi feito um corte vertical no colo da planta, aplicando-se o produto em forma de consistência pastosa com o auxílio de um pincel (Figura 5 B), de acordo com a metodologia proposta por SANTOS (2015).

Figura 4 - Vista geral do experimento sobre o efeito dos extratos vegetais e óleos essenciais no controle da fusariose.



Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

Figura 5 - Mudanças de pimenta-do-reino tratadas com extratos vegetais e óleos essenciais (A); Aplicação do fungicida no colo da planta (B).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

A avaliação do experimento foi realizada aos 7, 14, 21, 28 e 42 dias após as aplicações dos produtos, determinando-se a porcentagem de plantas infectadas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com dez tratamentos e cinco repetições, totalizando 50 parcelas.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico ASSISTAT Versão 7.7 (SILVA, 2016).

### **3.5.5 Análise microbiológica e química dos resíduos orgânicos e análise do solo**

A população microbiana de bactérias e fungos totais presente em cada resíduo orgânico foi determinada. A contagem de bactérias totais foi realizada de acordo com Nakasone et al. (1999) com alterações: verteu-se 100 µL dos extratos aquoso na concentração de 10% em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e espalhou-se com o auxílio de alça Drigalski. Para a determinação de fungos totais, foram adicionado 0,5 g de cada resíduo orgânico no tubo de ensaio com 9,5 mL de água destilada esterilizada (ADE) sendo homogeneizado, obtendo-se diluições seriadas até ( $1 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-5}$ ). Em seguida foi adicionado 100 µL de cada diluição sobre placas de Petri contendo meio BDA com adição do antibiótico ampicilina. As avaliações foram realizadas através da contagem das colônias de bactérias totais após 24 h, e para os fungos totais foram realizadas as identificações e contagem das colônias fúngicas com 72 h após a montagem dos experimentos.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições por tratamento correspondente por cada resíduo, sendo que as testemunhas foram utilizadas apenas água destilada esterilizada (ADE) sobre o meio de cultura. Foram avaliados as médias e as frequências dos resultados.

Para a análise química dos resíduos orgânicos, amostras de cada resíduo (10g) foram secas em estufa de ventilação forçada a  $65 \pm 2$  °C por 96 h, logo após passadas em moinho e acondicionados em sacolas plásticas e enviadas à empresa Central Analítica (Maceió - AL), onde foi determinados a relação C/N, macro e micronutrientes. Também foi realizado a análise química do solo utilizado nos experimentos “*in vivo*” (pH, macro e micronutrientes).

### 3.5.6 Efeito da incorporação de matéria orgânica no controle da fusariose em pimenta-do-reino

Os resíduos orgânicos utilizados foram casca de coco (CC), casca de mandioca (CM), folhas de nim (FN), folhas de eucalipto (FE) e folhas de pimenta-do-reino (FP) nas concentrações de 25, 50, 75 e 100 g.Kg<sup>-1</sup> de solo. Os resíduos orgânicos foram incorporados a solo autoclavado e colocados em vasos (1 L) (Figura 6). Trinta dias após as mudas de pimenta-do-reino com seis meses de idade foram transplantadas para os vasos e inoculadas, através da deposição de uma suspensão de inóculo de *Fusarium solani* (1,8 x 10<sup>6</sup> con.mL<sup>-1</sup>) na proporção de 50 mL/vaso, nas raízes feridas (raspagem superficial nas raízes) com o auxílio de um bisturi

A testemunha foi inoculada com o patógeno, sendo transplantada em solo autoclavado, sem a presença de resíduos. O tratamento químico usado foi com o fungicida (Carbendazim) na dosagem recomenda de 0,2 g/100 mL, sendo as plantas pulverizadas com a solução fungicida.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (5 x 4) +2, representado por cinco resíduos orgânicos e quatro concentrações, totalizando 22 tratamentos com quatro repetições (Figura 7).

Os parâmetros avaliados foram o percentual de plantas com sintomas da doença (incidência) aos 30, 60 e 90 dias após a incorporação dos resíduos orgânicos. Na última avaliação aos 90 dias, avaliou-se o comprimento da raiz. Para a incidência foram contadas as plantas que apresentaram os sintomas característicos da doença e transformados em porcentagem. Para calcular o comprimento da raiz foi realizado com o auxílio de uma régua milimétrica. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas por meio do programa estatístico ASSISTAT Versão 7.7 (SILVA, 2016).



Figura 6 - Incorporação dos resíduos orgânicos ao solo (A); vasos com os resíduos orgânicos incorporados (B).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2017

Figura 7 - Experimento “*in vivo*” com resíduos orgânicos no controle da fusariose (*Fusarium solani*).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2017

As avaliações descritivas na parte aérea das plantas inoculadas foram realizadas aos 30 e 60 dias após a inoculação do patógeno. A caracterização dos sintomas internos foi realizada aos 90 dias após a inoculação. As avaliações foram feitas baseadas em visualizações a olho nu e com o auxílio de uma lupa. Para visualizar os sintomas na parte interna, foram realizados cortes transversais e longitudinais no caule e na raiz das plantas de pimenta-do-reino, com o auxílio de um bisturi (Figura 8).

Figura 8 - Sintomas internos da fusariose aos 90 dias. Sistema radicular da planta (A); Corte longitudinal no sistema radicular (B) e no caule da planta (C); Corte transversal no caule (D) e no sistema radicular (E).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2017

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação do isolado e caracterização molecular

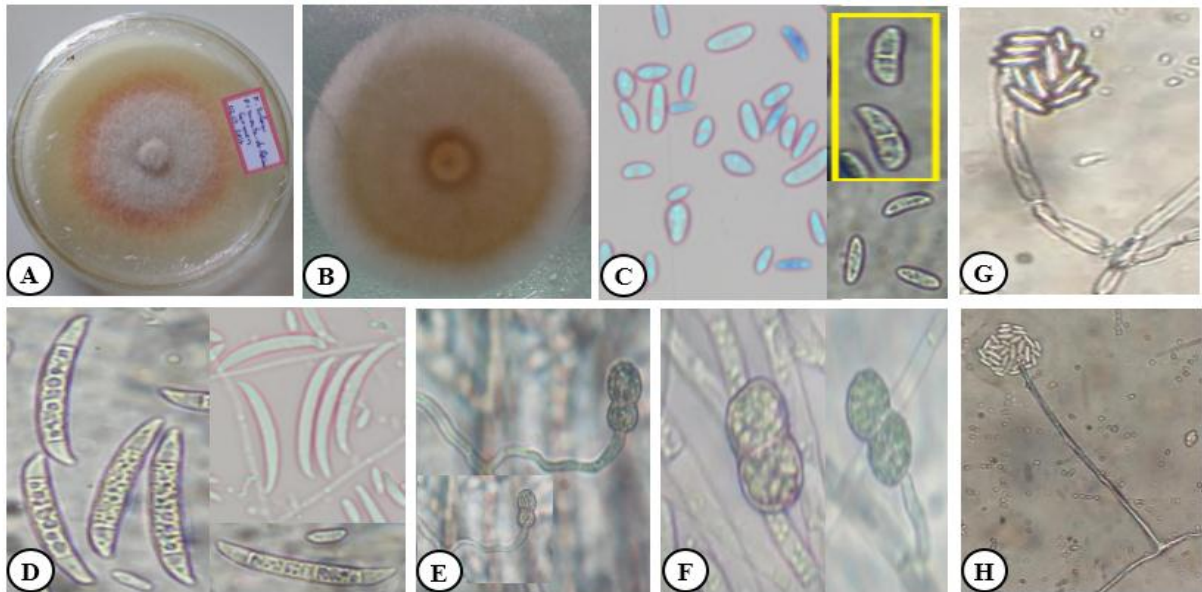
No presente estudo, obteve-se um isolado de *Fusarium* e a constatação em nível de gênero do agente causal da podridão de raízes da pimenta-do-reino pôde ser confirmada, visto que, o isolado apresentou todas as estruturas que designam tal constatação (Tabela 1).

Em lâminas feitas para observação das estruturas foram observados macro e microconídios e os clamidósporos. Os microconídios se apresentaram em fiáldes longas agregados em falsas cabeças em micélio aéreo. Os clamidósporos são globosos rugosos, formados de forma individual ou aos pares nos ramos laterais (Figura 9). Com auxílio da literatura especializada e observação das estruturas, foi concluído que se tratava do gênero *Fusarium* com características semelhantes a espécie *F. solani*. Resultados semelhantes foram constados por Carnaúba et al. (2007), Dariva (2011), Matos (2011), Vaz (2013), Rocha et al. (2016).

Tabela 1 - Características morfológicas e culturais de *Fusarium solani*, obtido em área produtora de pimenta-do-reino com sintoma de fusariose no município de Atalaia - AL.

Caracterização Morfológica			
Estruturas	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Identificação a nível de gênero
Macroconídios falcados, formato cilíndrico com pequena variação na curvatura, apresentando 3 a 5 septos. Microconídios hialinos, unicelulares, formato oval ou elipsoidal-oblongo, com número de septo variando entre 0 e 1.	20,48 – 2,47	5,75 – 1,84	<i>Fusarium solani</i>
Caracterização cultural			
Identificação a nível de gênero	Verso	Reverso	IVCM (cm.dia <sup>-1</sup> )
<i>Fusarium solani</i>	Crescimento micelial aéreo filamentosso, denso, de aspecto cotonoso, formado de hifas ramificadas, septadas e coloração branca no centro e nas extremidades e coloração salmão na região mediana.	Coloração creme claro	1,65

Figura 9 - Aspectos gerais de *Fusarium solani*.: Verso e reverso da colônia (A - B), microconídios (C), macroconídios (D), clamidósporos (E - F), microconídios em falsas cabeças (G - H).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

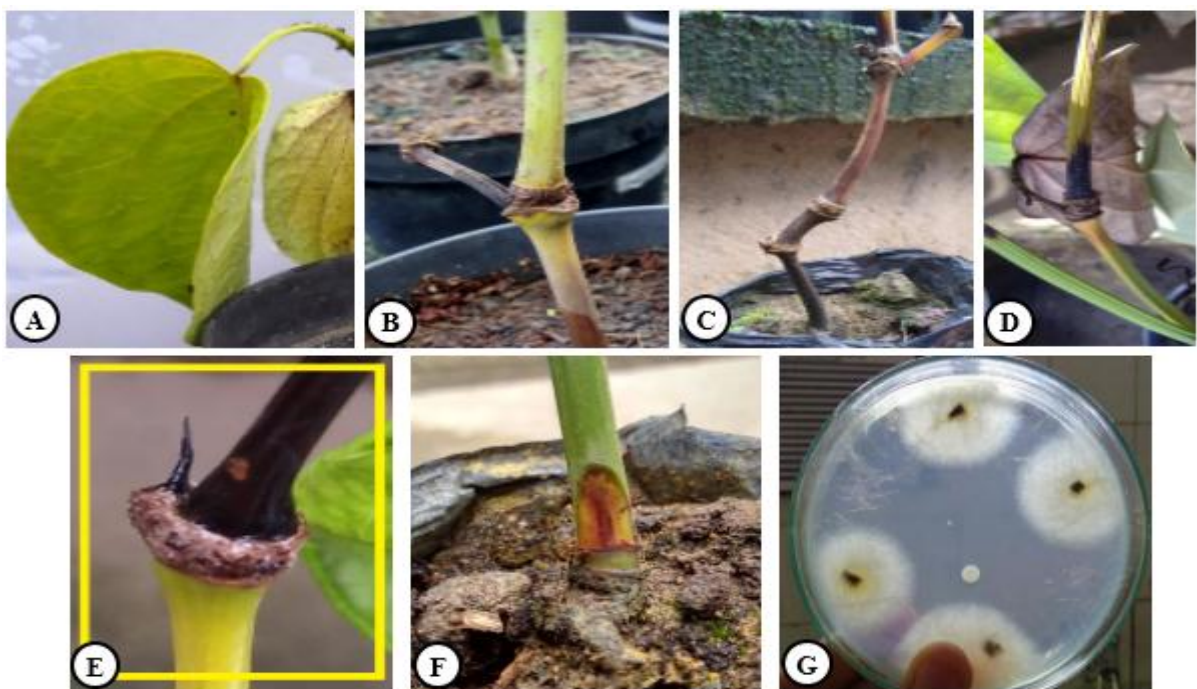
A caracterização molecular utilizando o gene que codifica para o facto elongation (EF1 -  $\alpha$ ), identificou o isolado como *Fusarium solani*, porém é necessário o uso de outras regiões genômicas para a identificação precisa da espécie, como o gene que codifica para a proteína RNA polimerase II (RPBII).

#### 4.2 Teste de patogenicidade e reisolamento

O isolado de *Fusarium solani* demonstrou patogenicidade nos dois métodos de inoculação as mudas de pimenta-do-reino (Figura 10). Em ambos os testes (inoculação por disco de micélio com ferimento no caule e por ferimento no sistema radicular), após 20 dias da inoculação, as mudas apresentaram sintomas típicos de fusariose. Os sintomas iniciais na parte aérea foram observados, destacando-se amarelecimento nas folhas, ramos, amarelecimento e apodrecimento do entrenó do caule, amarelecimento e escurecimento da base do caule da planta, prolongamento do apodrecimento da base do caule. Internamente observou-se o escurecimento dos vasos (xilema e floema). A partir dos sintomas descritos, o patógeno foi reisolado em meio BDA, completando os postulados de Robert Koch (1882), confirmando a

capacidade patogênica de *Fusarium solani* em causar doença em mudas de pimenteira-do-reino. Vale ressaltar que os mesmos sintomas foram observados em todos os experimentos “*in vivo*”. Resultados semelhantes foram constatados por Vaz (2013) e Rocha et al. (2016).

Figura 10 - Teste de patogenicidade com exibição de sintomas na parte externa e interna da planta. Amarelecimento nas folhas (A); Amarelecimento e escurecimento do caule (B); Escurecimento total do caule (C); Escurecimento e amarelecimento de ramo (D); Amarelecimento e apodrecimento do entrenó do caule (E); Escurecimento dos vasos condutores (F); Reisolamento do patógeno (G).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2016

### 4.3 Efeito de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani*

#### 4.3.1 Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* com óleos essenciais

O resultado da análise de variância (Tabela 2) revelou que houve diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade, entre os diferentes óleos essenciais sobre a porcentagem de inibição de crescimento micelial de *F. solani*. Observa-se que todos os óleos essenciais testados apresentaram atividades antifúngicas. Em relação ao efeito da interação dos óleos essenciais sob diferentes doses de aplicações observa-se que não houve diferença significativa, a 5% de probabilidade, indicando que o efeito dos diferentes óleos independe das

doses utilizadas, em razão das médias em cada óleo na mesma dose serem muito próximas, seus efeitos foram estudados separadamente.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância do efeito dos óleos essenciais sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC%) de *Fusarium solani*.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>QM</b>
Óleos essenciais – OE	5	22118,34**
Doses – D	3	749,11 --
Interação OE x D	15	99,04 ns
Tratamentos	25	5511,16**
Resíduo	130	59,48
<b>CV %</b>		<b>20,75</b>

NOTAS: (\*\*) Significativo a 1% de probabilidade; (ns) não significativo.

A Tabela 3 apresenta a porcentagem de inibição de crescimento micelial de *F. solani* induzida pelos óleos essenciais.

Tabela 3 - Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani*.

<b>TRATAMENTOS</b>	<b>PIC (%)</b>
Nim 25*	44,03**
Nim 50	41,74
Nim 75	45,96
Nim 100	46,61
Hortelã 25	81,2
Hortelã 50	91,61
Hortelã 75	100
Hortelã 100	100
Alho 25	21,49
Alho 50	28,25
Alho 75	31,1
Alho 100	30,24
Copaíba 25	22,03
Copaíba 50	22,13
Copaíba 75	33,03
Copaíba 100	25,12
Eucalipto 25	7,11
Eucalipto 50	11,94
Eucalipto 75	14,4
Eucalipto 100	25,09
Coco 25	9,94
Coco 50	10,14
Coco 75	19,51
Coco 100	12,75
Fungicida 0,2 g.100 mL <sup>-1</sup>	87,37
Testemunha	0

\* µL.mL<sup>-1</sup>; \*\*Porcentagem de inibição do crescimento micelial

Observa-se que a maioria dos tratamentos diferiram da testemunha. O óleo de nim nas dosagens de (25, 50, 75 e 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ) não diferiram estatisticamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade, apresentado percentuais de inibição micelial de 44,03, 41,74, 45,96 e 46,61% respectivamente.

Esses resultados com óleo de nim, assemelham-se a outros trabalhos pesquisados, evidenciando que o óleo de nim apresentou efeito inibitório nas quatro doses testadas. Moslem; El-Kholie (2009), estudando o extrato etanólico e metanólico de folhas de nim, obteve uma percentual de inibição de 100% no crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* na concentração de 40%. Silva (2006), utilizando o produto comercial Bioneem adicionado ao meio de cultura BDA, obteve 66% de inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Nascimento et al. (2016), estudando a fusariose da soja, verificaram que o óleo de nim na concentração de 6000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  teve um percentual de inibição de 27,37% do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Silva (2010), utilizando extratos de folhas frescas e desidratadas de nim, na concentração de 3,26% conseguiu uma inibição do crescimento micelial de 11,7 e 30,27% respectivamente, de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

O óleo de hortelã, nas doses de (25, 50, 75 e 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ), foram os que apresentam os melhores resultados na porcentagem de inibição crescimento micelial. As doses de 75 e 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  foram as que apresentaram os melhores resultados, visto que inibiram completamente o desenvolvimento do patógeno. Resultados apresentados neste trabalho diferem-se dos obtidos por Nascimento et al. (2016), que avaliaram o óleo de hortelã, e obtiveram a partir da menor dose 4000  $\mu\text{L.L}^{-1}$  um percentual de inibição micelial de 100% de *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, agente causador da fusariose na cultura da soja.

Os óleos essenciais de alho e copaíba nas doses testadas não apresentaram diferenças significativas. Os melhores percentuais de inibição de crescimento micelial, tanto para o alho como para o copaíba foram 31,1 e 33,03% na dose de 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ . Corroborando com esses resultados, Sousa et al. (2012) observaram que o óleo de copaíba na concentração de 1% obteve uma inibição micelial de 50% de *Colletotrichum gloeosporioides*. Nascimento et al. (2014), pesquisando o efeito do óleo essencial de copaíba, nas concentrações de 75 e 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , obtiveram um percentual de 36,32 e 57,84% respectivamente em *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Santos (2012), avaliando o extrato vegetal de alho, obteve 60,9% de inibição de crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Santos (2015), utilizou extrato aquoso de alho no controle de *Lasiodiplodia theobromae* em graviola, na concentração de 10%

conseguiu inibição de 100% do crescimento micelial do patógeno. Santos (2015), estudando o efeito de extrato aquoso de alho, alcançou uma porcentagem de inibição micelial de 100% de *Pythium cucurbitacearum*, agente causador da podridão da raiz e colo em mamoeiro.

Os óleos essenciais de eucalipto e coco não diferiram entre si nas doses utilizadas e apresentaram os mais baixos percentuais de inibição do patógeno em comparação com os demais óleos essenciais usados nos experimentos. Os melhores percentuais de inibição micelial foram observados nas doses de 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  para eucalipto e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  para coco, com inibições de 25,09 e 19,51%, respectivamente. Os resultados apresentados neste trabalho, diferem-se aos obtidos por Nascimento et al. (2015), que avaliando o óleo essencial de eucalipto no controle de *Fusarium solani* f. sp. *glycines* na cultura da soja, demonstraram um percentual de inibição micelial de 47,98% na concentração de 100  $\mu\text{L}$ .

Com relação ao óleo de coco, Sousa et al. (2012), obtiveram uma redução na taxa de crescimento micelial de *C. gloeosporioides* de 26,33% utilizando o óleo na concentração de 1%, além de apresentar inibição no desenvolvimento da lesão provocada pelo patógeno. Corroborando com esses resultados, Abreu et al. (2014), observaram uma inibição do crescimento micelial de 50% de *C. gloeosporioides* em maracujá, na dose de 300  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  com óleo de coco.

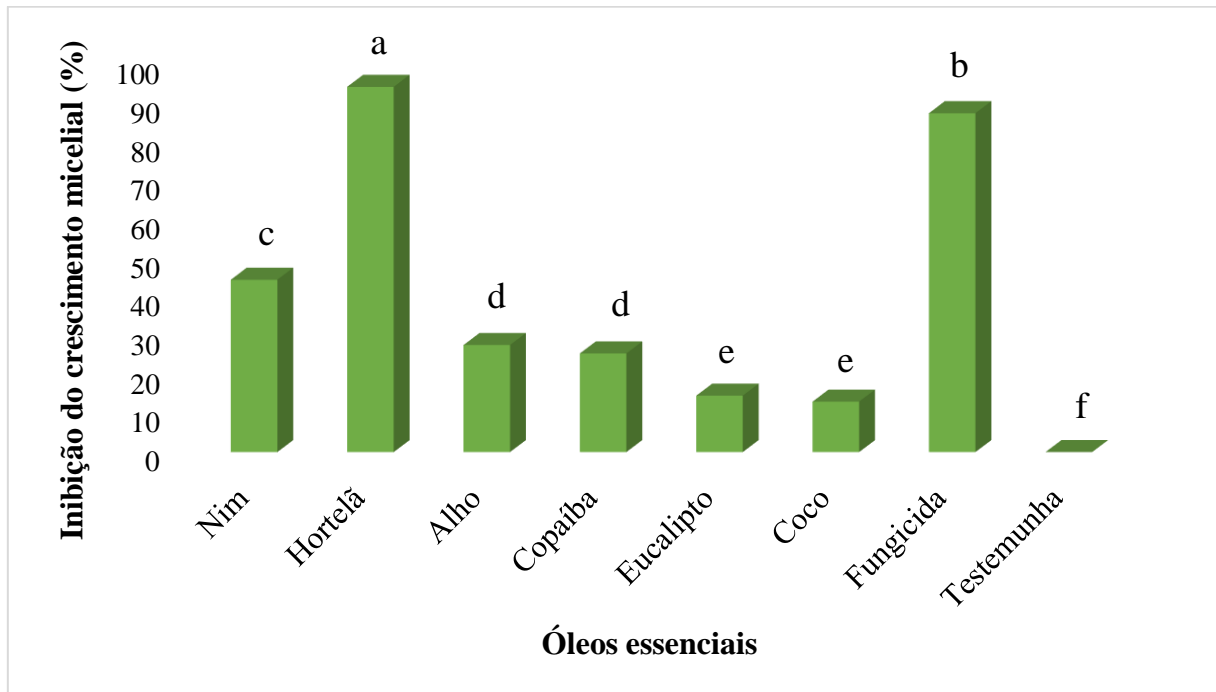
A Figura 11, apresenta os resultados das médias gerais dos produtos independente da dose utilizada de cada óleo essencial sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani*. O óleo de hortelã mostrou-se mais eficiente, proporcionou os maiores percentuais de inibição do crescimento micelial nas quatro concentrações usadas, diferenciando dos demais óleos testados, obtendo por média geral um percentual de inibição do crescimento micelial de 94,13% e que diferiu do fungicida com 87,37% de controle do crescimento do fungo. O óleo de nim apresentou o segundo melhor resultado com 44,58% de porcentagem de inibição do crescimento micelial do patógeno. Os óleos de alho e copaíba não apresentaram diferença significativa com percentual de inibição de 27,77 e 25,58% respectivamente. Os óleos de eucalipto e coco foram os que proporcionaram baixa inibição micelial com 14,63 e 13,09%, apesar de não diferirem entre si. A testemunha apresentou zero de inibição do crescimento micelial, como já era esperado, pois o fungo foi depositado apenas em meio de cultura BDA, sem a adição dos óleos essenciais.

Os resultados obtidos neste experimento, mostram que os óleos essenciais de hortelã, nim, alho, copaíba, eucalipto e coco possuem eficiência no controle no desenvolvimento *in vitro*



do *Fusarium solani*, alguns mais e outros menos. Esse controle é devido as substâncias químicas presentes nesses óleos com propriedades antifúngicas. Os óleos essenciais selecionados de acordo com os maiores percentuais de inibição micelial, destacando-se o óleo de hortelã e nim nas doses de 50 e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ .

Figura 11 - Efeito dos óleos essenciais independente da dose utilizada sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Fusarium solani*.



#### 4.3.2 Modo de ação dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Fusarium solani*

Os efeitos fungitóxicos foram observados em todos os óleos essenciais utilizados, possivelmente, devido à presença de substâncias químicas bioativas, promovendo diversas funções, dentre elas as atividades antifúngicas. Entretanto, o efeito fungicida (Tabela 4) foi observado apenas para o óleo essencial de hortelã nas doses de 75 e 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ . Corroborando com esses resultados, Santos (2015), avaliando o modo de ação de extratos e óleos essenciais em *Pythium cucurbitacearum*, verificou que o óleo de hortelã apresentou efeito fungicida nas concentrações de 2 e 4  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , inibindo totalmente o crescimento micelial do patógeno. Resultados semelhantes foram observados por Silva (2014), que verificou o efeito fungicida de óleo de hortelã-pimenta, na dose de 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  em *Phaeoramularia manihotis*, agente causador da mancha branca na cultura da mandioca.

De acordo com Soriano (2011), os óleos essenciais e extratos vegetais através de seus compostos com atividade antimicrobiana, podem apresentar efeito fungicida e fungistático, no desenvolvimento dos fitopatógenos, quando ocorrer a inviabilidade de estruturas reprodutivas e micélio do fungo, apresenta efeito fungicida, para o efeito fungistático promove apenas uma paralisação do crescimento micelial, podendo o patógeno voltar a se estabelecer e desenvolver, caso o tratamento seja eliminado.

Tabela 4 - Modo de ação do óleo essencial testado que apresentou inibição de 100% do crescimento micelial de *Fusarium solani*.

TRATAMENTOS	MODO DE AÇÃO*
Óleo de Hortelã 75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	(-)
Óleo de Hortelã 100 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	(-)

\*(-): Ação Fungicida

#### 4.3.3 Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* com extratos brutos aquosos (EBA)

Foi observado o efeito significativo ( $p < 0,01$ ) da interação dos extratos brutos aquosos (EBA) sob diferentes concentrações, sobre a porcentagem de inibição crescimento micelial (PIC) de *Fusarium solani*, indicando que a (PIC) depende da concentração dos (EBA). Em vista disso, as variáveis foram desdobradas para (EBA) dentro de cada concentração, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), conforme a Tabela 5. Para a porcentagem de inibição de crescimento micelial em função das concentrações usadas para cada (EBA), aplicou-se regressão.

Observa-se que o extrato bruto aquoso de melão-de-são caetano proporcionou os melhores resultados no percentual de inibição do crescimento micelial, nas concentrações de 5 e 10%, com inibição de 65,01 e 61,01% respectivamente, seguido pelo extrato de mandioca, com 28,9 e 51,53% nessa ordem. Nas concentrações de 5, 10, 15%, os extratos de mamona e coentro não diferiram entre si, diferenciando-se apenas na concentração de 20%, onde o extrato coentro apresentou uma inibição micelial do patógeno de 54,59% e o extrato de mamona com 33,87%. Verifica-se que na concentração de 15% o extrato de pimenta-do-reino não diferiu dos

extratos de mandioca e melão-de-são caetano. Na maior concentração testada, não houve diferença significativa entre os extratos de mandioca e melão-de-são caetano, com inibição de crescimento micelial de 66,57 e 59,44% do patógeno. Vale ressaltar que o extrato de pimenta-do-reino mostrou-se muito promissor no controle “*in vitro*” de *Fusarium solani* nas maiores concentrações testadas, com inibições superiores a 50%. O extrato de mamona foi o que apresentou os mais baixos percentuais de inibição do crescimento micelial nas quatro concentrações utilizadas. Nas concentrações de 10 e 15%, os extratos de mandioca e melão-de-são caetano apresentaram inibição de crescimento micelial de 51,53 e 55,48% e 61,01 e 57,61% nessa ordem, sendo selecionadas para o experimento “*in vivo*” as doses intermediárias.

Tabela 5 - Efeito da interação dos extratos brutos aquosos (EBA) de pimenta-do-reino, mandioca, mamona, melão-de-são caetano e coentro sob diferentes concentrações na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Fusarium solani*.

EBA	CONCENTRAÇÕES			
	5%	10%	15%	20%
<b>Pimenta-do-reino</b>	20,56 c*	38,40 c	59,33 a	55,24 b
<b>Mandioca</b>	28,90 b	51,53 b	55,48 a	66,57 a
<b>Mamona</b>	6,92 d	19,81 d	21,85 b	33,87 c
<b>Melão-de-são caetano</b>	65,01 a	61,01 a	57,61 a	59,44 ab
<b>Coentro</b>	13,83 cd	24,56 d	22,73 b	54,59 b
<b>CV %</b>	11,28			

\*Médias seguidas pela mesma letra minúscula em cada coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados desse estudo indicam a eficiência dos extratos vegetais de pimenta-do-reino, mandioca, mamona, melão-de-são caetano e coentro no desenvolvimento “*in vitro*” de *Fusarium solani* em pimenta-do-reino. Vários trabalhos na literatura demonstram eficiência desses extratos vegetais no controle de fitopatógenos.

Barros et al. (2013), avaliando a eficiência “*in vitro*” do extrato de pimenta-do-reino sobre o crescimento micelial de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, verificou que a partir da concentração de 10%, obteve uma redução de 42% do diâmetro da colônia. Resultados semelhantes foram observados por Dias et al. (2016), que utilizando diferentes extratos vegetais

no controle de *L. theobromae*, verificaram que o extrato de pimenta-do-reino apresentou um percentual de inibição do crescimento micelial de 43,25%. Coutinho et al. (2015), estudando o crescimento micelial de *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc. verificaram inibição de 100% no crescimento pela aplicação a partir de 10% de extrato hidroalcoólico vegetal de pimenta-do-reino. Resultados contrários ao deste estudo, foram encontrados por Barros et al. (2013), em que o extrato de coentro nas concentrações de 5, 10, 20 e 30% não manifestaram atividades fungitóxicas sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. Rentschler (2014), estudando o extrato de coentro no controle de *Alternaria alternata* (Fries) e *Alternaria dauci* (Kühn) em sementes de cenoura, na concentração de 10% obteve uma média de incidência de 13,3% de *A. alternata* em relação a testemunha com incidência de 55,9% e com média de 1,5% para *A. dauci* em comparação a testemunha com incidência de 11,3%. Rodrigues et al. (2011), avaliando o efeito de hidrolatos de *Coriandrum sativum* sobre o desenvolvimento de *Phytophthora sp.*, verificaram que após 144 hs, utilizando as concentrações de 10 e 15% promoveram uma porcentagem de inibição micelial de 45,05 e 66,24%, respectivamente.

Vidal (2013), avaliando o efeito “*in vitro*” de extrato de melão-de-são caetano sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, observou uma inibição micelial de 74,5% na concentração de 1500 ppm. Nunes (2011), observou que a partir da concentração de 10% de extrato de melão-de-são caetano, obteve inibição micelial de 74% em *C. gloeosporioides* em mamoeiro. Em estudos realizados por Venturoso et al. (2011), obtiveram uma inibição de 36,6% do crescimento micelial de *Cercospora kikuchii* (Matsu & Tomoyasu) Gardner utilizando extrato de melão-de-são caetano.

Tokano et al. (2007), avaliando o efeito do detergente do óleo de mamona sobre o crescimento micelial de *Fusarium graminearum* Schwabe, obtiveram uma inibição de 79,4% no tamanho de sua colônia na concentração de 100 mL.L<sup>-1</sup> e para *C. lindemuthianum*, observaram uma inibição do crescimento micelial de 83%, apresentando efeito fungitóxico direto sobre os dois patógenos. Harish et al. (2004), estudando a atividade antifúngica de extratos aquosos de sementes de mamona, verificaram uma inibição do crescimento micelial de 55,68% de *Helminthosporium oryzae* (Breda de Haan).

Em estudo realizado por Veras (2006), também ficou evidenciado o efeito inibitório de extrato aquoso de mandioca em *F. oxysporum f. sp. vasinfectum*. Ferreira (2009), avaliou o efeito de diferentes concentrações de extrato aquoso de mandioca sobre *F. oxysporum f. sp.*

*passiflorae*, na concentração de 10% obteve o maior potencial de inibição de crescimento micelial.

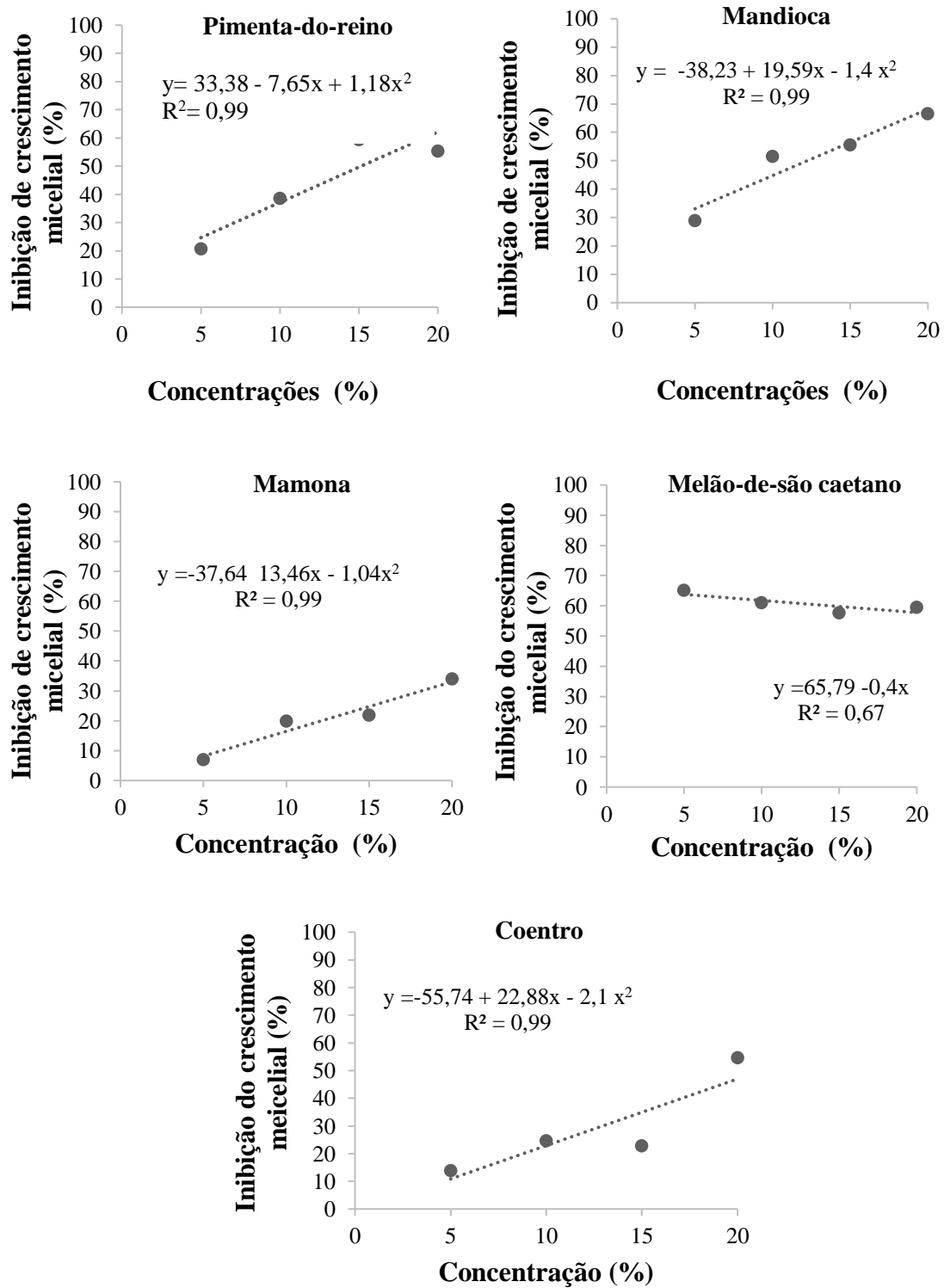
De acordo com as análises de regressão (Figura 12), observa-se que o modelo que mais se adequou foi o quadrático, para as concentrações dos extratos de pimenta-do-reino, mandioca, mamona e coentro, exceto para o extrato de melão-de-são caetano que mostrou-se em equação linear.

A curva dose-resposta para o extrato bruto aquoso (EBA) de pimenta-do-reino, com coeficiente de determinação de 99%, entre a porcentagem de inibição do crescimento micelial e as concentrações testadas. Observa-se que a partir da concentração de 5% já apresentam efeitos significativos de inibição do patógeno, porém, os melhores percentuais de inibição micelial foram verificados nas concentrações de 15 e 20%. Para o extrato bruto aquoso (EBA) de mandioca, o efeito inibitório do patógeno foi observado a partir da concentração de 5% e verifica-se o aumento do percentual de inibição micelial em função do aumento das concentrações testadas, com coeficiente de determinação de 99%.

Nota-se que o extrato bruto aquoso (EBA) de mamona apresentou os menores percentuais de inibição do crescimento micelial em todas as concentrações, onde na maior concentração obteve o maior porcentagem de inibição do patógeno, indicando que a redução da colônia fúngica é diretamente proporcional ao aumento da concentração, com coeficiente de determinação de 99%.

O extrato bruto aquoso (EBA) de melão-de-são caetano promoveu uma inibição micelial linear sobre a colônia de *Fusarium solani*. Verifica-se que houve uma acentuada redução do diâmetro da colônia do patógeno, com inibição acima de 60% a partir da concentrações de 5 e 10%, no entanto, nota-se uma diminuição com o aumento da concentração na porcentagem de inibição do crescimento micelial, apresentando coeficiente de determinação de 67%. Para o extrato bruto aquoso (EBA) de coentro, observa-se que a partir da concentração de 10% já apresenta efeito na inibição do crescimento micelial acima de 20%, chegando atingir mais que o dobro na porcentagem de inibição micelial na maior concentração, com coeficiente de determinação de 99%, demonstrando atividade fungitóxica ao patógeno.

Figura 12 - Efeito da concentração de extrato bruto aquoso (EBA) na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Fusarium solani*.



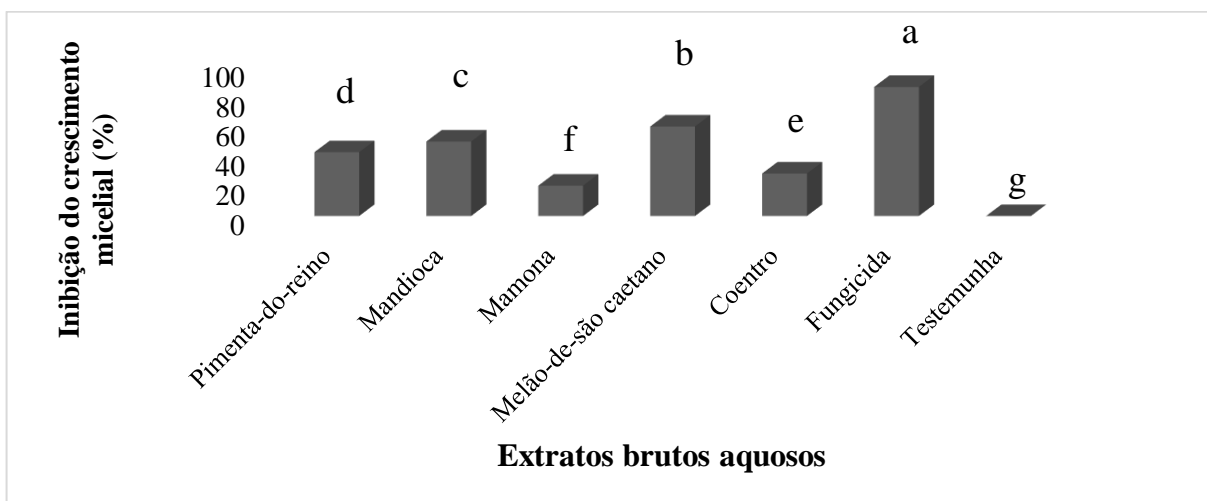
Na Figura 13 observa-se as médias gerais dos estratos brutos aquosos das quatro concentrações testadas sobre a inibição do crescimento micelial do *Fusarium solani*.

O extrato bruto aquoso (EBA) de melão-de-são caetano apresentou maior eficiência no percentual de inibição de crescimento micelial em comparação com os demais extratos testados, com inibição de 60,76% do patógeno, seguido pelo (EBA) de mandioca e pimenta-do-reino, os quais proporcionaram uma inibição de 50,62 e 43,38%, respectivamente. Verifica-se que os (EBA) de mamona e coentro, mostraram-se os mais baixos percentuais de inibição com 20,61 e 28,93%, nessa ordem. Todos os (EBAs) avaliados diferiram estatisticamente entre si e do fungicida e da testemunha. A atividade antifúngica dos (EBAs) foram evidenciados sobre o desenvolvimento de *Fusarium solani*.

Segundo Schwan-Estrada et al. (2000), essa atividade antifúngica é devido as várias substâncias presentes nos órgãos das plantas (folhas, sementes, raízes, flores), onde encontram-se alta diversidade de metabólitos secundários que são sintetizados, muitos desses com atividade antifúngica. Esses compostos secundários provocam a interrupção na membrana plasmática, inibindo a ação das enzimas fúngicas, ocasionando desorganização no conteúdo celular dos fungos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

O fungicida, apresentou o maior percentual de inibição micelial do patógeno, com 87,37%. Para a testemunha, não houve inibição do crescimento micelial, como já era esperado, pois o fungo foi depositado apenas em meio de cultura BDA, sem a adição dos EBAs.

Figura 13 - Efeito das médias gerais de extratos brutos aquosos (EBA) sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Fusarium solani*.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

#### 4.4 Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o controle da fusariose (*Fusarium solani*) em mudas de pimenta-do-reino

Observa-se que houve interação significativa ( $p < 0,01$ ) dos produtos (EBA + OE) sob os diferentes épocas de avaliação dos produtos, sobre a incidência de plantas com sintomas de fusariose, indicando que o parâmetro avaliado, a incidência, depende das épocas de aplicações dos produtos testados. Desse modo, as variáveis foram desdobradas para os produtos dentro de cada época de avaliação, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), conforme a Tabela 6.

Tabela 6 - Efeito dos extratos brutos aquosos de melão-de-são caetano (EBAME), mandioca (EBAMA) e óleos essenciais de nim (OENIM), hortelã (OEHORT) sobre a incidência da fusariose em mudas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.).

TRATAMENTOS	ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO (DIAS)				
	7	14	21	28	42
TESTEMUNHA	60 aC	60 aC	60 bC	80 aB	100 aA
FUNGICIDA	20 cB	20 cB	40 cA	40 cA	40 dA
EBAME 10%	40 bB	60 aA	60 bA	60 bA	60 cA
EBAME 15%	0 dC	20 cB	20 dB	40 cA	40 dA
EBAMA 10%	60 aB	60 aB	80 aA	80 aA	80 bA
EBAMA 15%	20 cD	40 bC	60 bB	60 bB	80 bA
OENIM 50 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	40 bB	60 aA	60 bA	60 bA	60 cA
OENIM 75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	40 bB	40 bB	40 cB	60 bA	60 cA
OEHORT 50 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	40 bB	40 bB	80 aA	80 aA	80 bA
OEHORT 75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	0 dC	20 cB	40 cA	40 cA	40 dA
CV%	15,04				

\*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

As aplicações dos produtos proporcionaram resultados consideráveis no controle da fusariose ou podridão-das-raízes da pimenteira-do-reino. Na primeira avaliação, observa-se que não houve plantas com sintomas da doença para o extrato aquoso de melão-de-são caetano na concentração de 15%, e para o óleo de hortelã na dose de 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , mostrando-se como os mais eficientes em relação aos demais tratamentos. Os óleos de nim nas duas doses 50 e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , hortelã 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , extrato de melão-de-são caetano na concentração de 10%, não



apresentaram diferença significativas, porém, diferiram da testemunha e do fungicida, com incidência de 60 e 20%, respectivamente.

Na segunda avaliação aos 14 dias, verifica-se que não houve diferença entre o fungicida, extrato de melão-de-são caetano 15%, hortelã 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , os mesmos proporcionaram os menores índices de plantas com sintomas da doença, seguidos por extrato de mandioca 15%, óleo de nim 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  e óleo de hortelã 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , com 40% de incidência da fusariose.

Observa-se que a partir da terceira avaliação (21 dias), o percentual de incidência da doença já tem um certo aumento, em relação as duas avaliações anteriores. O extrato de melão-de-são caetano (15%) apresentou melhor resultado no controle da doença, diferenciando-se todos os demais tratamentos, com 20% de plantas com sintomas. Enquanto ao extrato de melão-de-são caetano (10%), extrato de mandioca (15%) e óleo de nim 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , obtiveram 40% de plantas com sintomas não apresentando diferença significativa em comparação com a testemunha. Em relação ao extrato de mandioca (10%) e hortelã 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , pode-se observar efeito conducente, favorecendo a ação do patógeno, superando o valor da testemunha. O óleo de nim, hortelã na dose de 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  e o fungicida, mostraram os mesmos valores com 40% de incidência, não se diferenciando.

Na quarta avaliação (28 dias), verifica-se o extrato de mandioca (10%) e o óleo de hortelã 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , atingiram os mesmos valores de incidência com 80%, nessa condição não foram eficiente no controle da fusariose, pois não diferiram da testemunha. O extrato de melão-de-são caetano (15%), hortelã 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  e o fungicida não apresentaram diferença significativa com percentual de incidência de 40%. O extrato de melão-de-são caetano (10%), mandioca (15%), óleo de nim na dose de 50 e 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , proporcionaram uma alta incidência (60%) de plantas com sintomas, não houve diferença significativa.

Na última avaliação (42 dias), os tratamentos que mostraram os mais eficientes resultados, os mais baixos índices de incidência da doença foram: extrato de melão-de-são caetano (15%), óleo de hortelã 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , conseguiram proporcionar um controle da fusariose com 40% de plantas com sintomas não diferenciando do fungicida utilizado.

Vale ressaltar que as doses utilizadas no experimento não promoveram fitotoxicidade para as plantas, o que difere dos resultados encontrados por Santos (2015), que estudando o efeito de óleo de hortelã no controle “*in vivo*” de *L. theobromae* em mudas de graviola, na dose de 25  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  ocasionou fitotoxidez nas folhas das plantas. Resultados semelhantes são

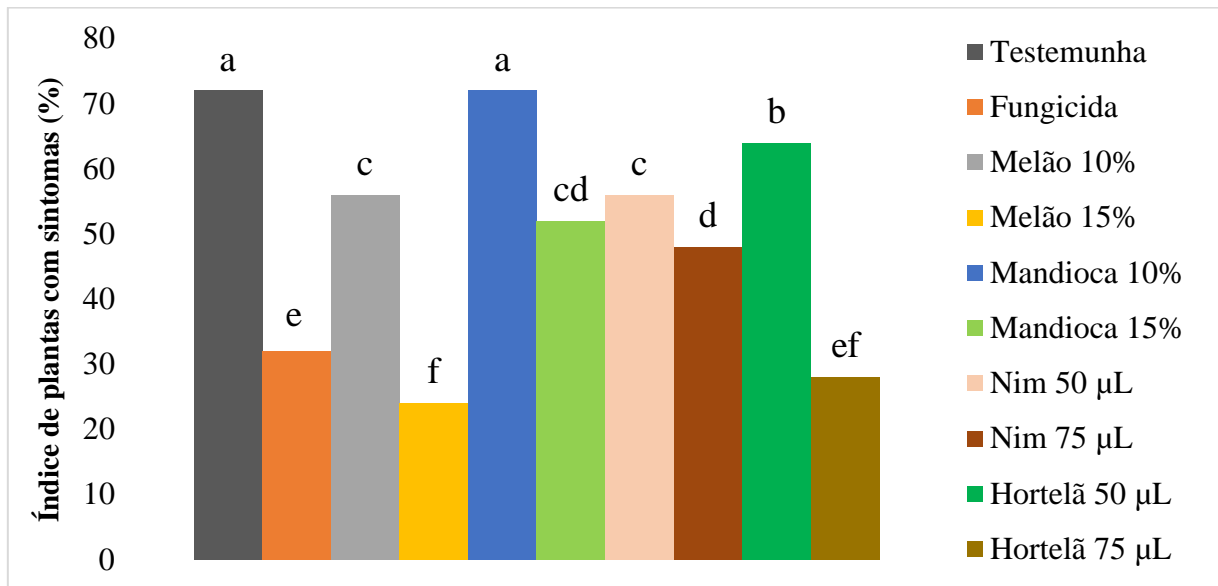
observados por Silva (2014), que utilizando óleo de hortelã no controle “*in vivo*” de *Phaeoramularia manihotis*, agente causal da mancha branca na mandioca, na dose de 100  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  sobre a superfície das folhas, não provocou efeito fitotóxico para as plantas.

O bom nível de controle da doença do extrato de melão-de-são caetano na concentração de 15% e do óleo de hortelã na dose de 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , foi devido, provavelmente, a sua ação direta contra o patógeno, devido as suas atividades antifúngicas ou de forma indireta, promovendo a ativação de substâncias elicitoras, ativando os mecanismos de defesa da própria planta, promovendo assim a redução da incidência.

Na Figura 14 verifica-se os resultados das médias gerais dos cinco períodos de avaliação dos extratos brutos aquosos (EBA) e dos óleos essenciais sobre a incidência da fusariose em mudas de pimenta-do-reino.

O EBA de melão-de-são caetano na concentração de 15% e o óleo de hortelã na dose de 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , proporcionaram os menores índices de doença nas mudas de pimenta-do-reino, com 24 e 28% respectivamente, diferindo de modo significativo do fungicida, onde apresentou 32% de incidência da doença. O EBA de mandioca na concentração de 15% e o óleo de nim na dose de 75  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , apresentaram-se como segundo melhor resultado sobre a incidência da doença, com 52 e 48% nessa ordem. Os EBA de mandioca, melão-de-são caetano na concentração de 10%, óleo de nim, hortelã na dose de 50  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , ocasionaram os maiores índices de doença nas mudas de pimenteira-do-reino, com 72, 56, 56 e 64% respectivamente. Observa-se que o EBA de mandioca na concentração de 10% atuou de forma conducente ao patógeno, favorecendo o desenvolvimento do patógeno, e não diferenciando-se estatisticamente da testemunha.

Figura 14 - Efeito de óleos essenciais e extratos brutos aquosos sobre a incidência da fusariose (*Fusarium solani*) em mudas de pimenta do reino.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

A eficiência do extrato bruto aquoso (EBA) do melão-de-são caetano na maior concentração, deve-se possivelmente as suas substâncias bioativas presentes que possuem ação antifúngica, tais como alcaloides, flavonoides, saponinas, glicosídeos. Para o óleo essencial de hortelã na maior dose, verifica-se o bom nível de controle da incidência da doença, que possivelmente foi devido aos seus diversos compostos com atividades e propriedades antifúngicas, destacando-se como principal o mentol.

Apesar da escassez de trabalhos na literatura, envolvendo o uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle da fusariose em pimenta-do-reino, os resultados obtidos no presente trabalho são promissores e servirão de base para novas pesquisas que venham a buscar novas alternativas de controle, e posteriormente que sejam implementadas em condição de campo.

#### 4.5 Resíduos orgânicos no controle da fusariose em pimenta-do-reino

##### 4.5.1 Análise microbiológica dos resíduos orgânicos

Os resultados da análise microbiológica dos resíduos orgânicos apresentaram alta quantidade de microrganismos (Fungos + Bactérias) presentes em cada amostra. Na análise de

colônias para bactérias totais (Tabela 7), o resíduo de nim apresentou o maior número de colônias de bactérias (77.4), com frequência de 32,46 %. O resíduo de casca de mandioca apresentou a segunda maior quantidade de colônias bacterianas (48.4) com frequência de 20,3 %, seguidos pelos resíduos de casca de coco (39,4), pimenta-do-reino (37.6) e eucalipto (39.4) com frequência de 16,52 %, 15,77 % e 14,93 % respectivamente.

Ferreira (2009), avaliando o efeito de resíduos orgânicos sobre a incidência da fusariose em maracujazeiro, notou um índice alto de colônias de bactérias totais presentes nos resíduos orgânicos de nim (20), eucalipto (21) e mandioca (16) colônias bacterianas e relacionou esses resultados à supressão da doença em casa de vegetação. Ferreira et al. (2015), constataram grandes quantidades de colônias bacterianas presentes nos resíduos orgânicos de eucalipto, com uma frequência de 24,71 %, seguidos por resíduo de bagaço de coco e casca de mandioca com frequências de 21,18 e 18, 82 % ao trabalhar com o controle da fusariose em maracujá amarelo. Veras (2006), estudando o uso de resíduos orgânicos no controle da fusariose do quiabeiro, verificou a presença de colônias de bactérias nos resíduos de nim e mandioca, com 68 e 87 colônias formadas.

Tabela 7 - Colônias de bactérias totais presente nos resíduos orgânicos de nim, eucalipto, pimenta-do-reino, casca de coco e casca de mandioca, após incubadas por 24 h em meio BDA.

<b>RESÍDUOS ORGÂNICOS</b>	<b>Nº DE COLÔNIAS</b>	<b>FREQUÊNCIA (%)</b>
<b>Nim</b>	77,4*	32,46
<b>Eucalipto</b>	35,6	14,93
<b>Pimenta-do-reino</b>	37,6	15,77
<b>Casca de coco</b>	39,4	16,52
<b>Casca de mandioca</b>	48,4	20,3
<b>TOTAL</b>	238,4	100

\*Média de cinco placas de Petri/resíduo orgânico.

A Tabela 8 apresenta a quantidade de fungos totais presentes nos resíduos orgânicos nas diluições de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ . A diluição ( $10^{-4}$ ) apresentou maior quantidade de colônias fúngica formadas em comparação a diluição ( $10^{-5}$ ). As espécies de fungos que apresentaram uma maior frequência foram *Rhizopus sp.*, seguidos por *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*. A maior

diversidade detectada de fungos foi no resíduo de eucalipto, pimenta-do-reino e casca de coco, sendo responsáveis por quatro dos cinco fungos identificados nos resíduos, seguido por nim com três dos cinco fungos identificados e casca de mandioca com dois fungos dos cinco observados. A porcentagem de frequência das colônias fúngicas com as espécies identificadas na análise microbiológica por cada resíduo orgânico podem ser observados na Figura 15.

Tabela 8 - Identificação e número de colônias fúngicas observados nas duas diluições em 0,5 g dos resíduos orgânicos de nim, eucalipto, pimenta-do-reino, casca de coco e casca de mandioca, após incubadas por 72 h em meio BDA.

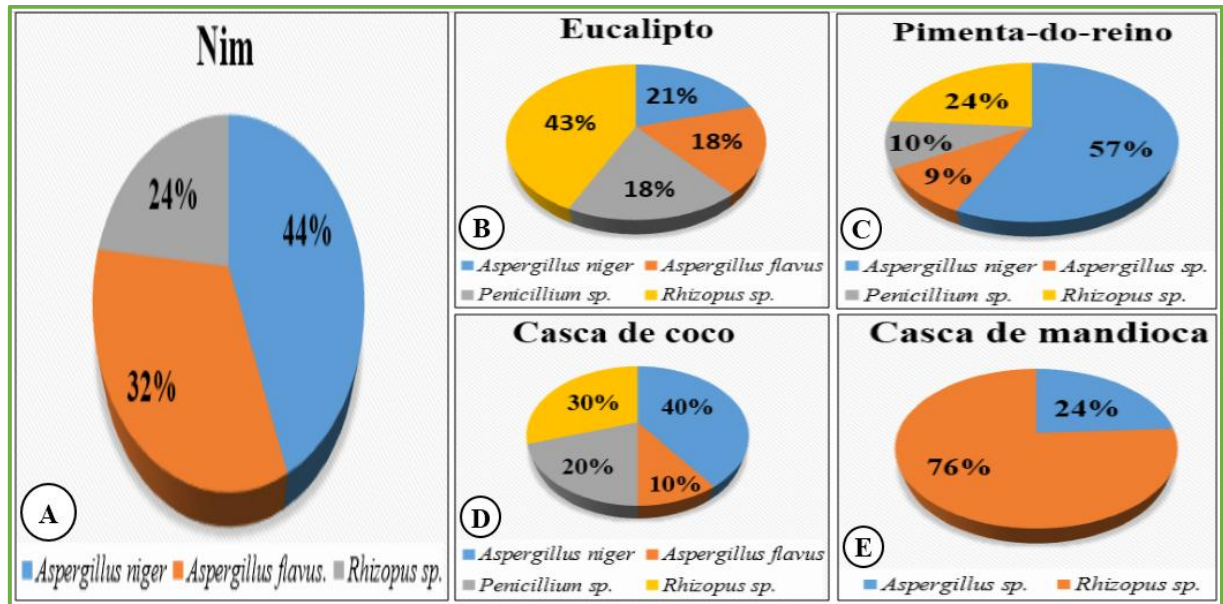
Nº DE COLÔNIAS FÚNGICAS*						
Diluição (1 x 10 <sup>-4</sup> )						
RESÍDUOS	A. <i>niger</i>	A. <i>flavus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>sp.</i>	<i>Penicillium</i> <i>sp.</i>	<i>Rhizopus</i> <i>sp.</i>	TOTAL
Nim	71*	44	-	-	72	187
Eucalipto	5	8	-	9	17	39
Pimenta-do-reino	6	-	-	-	3	9
Casca de coco	2	-	-	2	3	7
Casca de mandioca	-	-	20	-	48	68
<b>TOTAL</b>	<b>84</b>	<b>52</b>	<b>20</b>	<b>11</b>	<b>143</b>	<b>310</b>

Nº DE COLÔNIAS FÚNGICAS*						
Diluição (1 x 10 <sup>-5</sup> )						
RESÍDUOS	A. <i>niger</i>	A. <i>flavus</i>	<i>Aspergillus</i> <i>sp.</i>	<i>Penicillium</i> <i>sp.</i>	<i>Rhizopus</i> <i>sp.</i>	TOTAL
Nim	64*	55	-	-	-	119
Eucalipto	5	1	-	-	4	10
Pimenta-do-reino	6	-	2	2	2	12
Casca de coco	2	1	-	-	-	3
Casca de mandioca	-	-	-	-	15	15
<b>TOTAL</b>	<b>77</b>	<b>57</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>21</b>	<b>159</b>

\*Soma total das colônias obtidas nas repetições

Figura 15 - Porcentagem total da frequência das espécies fúngicas identificadas nos resíduos orgânicos de nim, eucalipto, pimenta-do-reino, casca de coco e casca de mandioca, após incubadas por 72 h em meio BDA.



Nota: (A) *Aspergillus niger*; *Aspergillus flavus*; *Rhizopus sp.*; (B) *Aspergillus niger*; *Aspergillus flavus*; *Rhizopus sp.*; *Penicillium sp.*; (C) *Aspergillus niger*; *Aspergillus flavus*; *Rhizopus sp.*; *Penicillium sp.*; (D) *Aspergillus niger*; *Aspergillus flavus*; *Rhizopus sp.*; *Penicillium sp.*; (E) *Aspergillus sp.*; *Rhizopus sp.*

Fonte: GOMES FILHO, J, 2017

Veras (2006), trabalhando com diferentes resíduos orgânicos no controle da fusariose em quiabeiro, entre eles a casca de mandioca e nim, através da análise microbiológica encontrou uma grande diversidade de fungos, sendo que *A. flavus*, *Penicillium*, *Rhizopus stolonifer* e *A. niger* foram os mais frequentes. Resultados semelhantes também foram encontrados por Nascimento (2005), estudando os resíduos de casca de mandioca e nim incorporados ao solo como fator de supressividade, encontrou uma alta variabilidades de fungos nos dois resíduos, destacando-se uma frequência expressiva de *Aspergillus flavus* em casca de mandioca e *Aspergillus niger* em nim.

Ferreira (2009), avaliando os resíduos de eucalipto, mandioca, nim, casca de coco babaçu no controle da fusariose em maracujazeiro amarelo, identificou as espécies fúngicas com maiores frequências associadas para cada resíduo, para o resíduo de eucalipto foram identificados *Aspergillus niger* (10%), *Aspergillus flavus* (27%), *Penicillium sp.* (63%), em casca de mandioca *Aspergillus niger* (3,44%), *Aspergillus flavus* (6,89%), *Aspergillus*

*ochraceus* (89,67%), e apenas *R. stolonifer* (100%) e casca de coco babaçu *A. niger* (13,41%), *A. flavus* (1,2%), *A. ochraceus* (20,73%), *Penicillium sp.* (48,78%) e *Mucor sp.* (14,68%).

Na análise microbiológica, Ferreira et al. (2015), identificaram *A. niger*, *A. flavus* e *A. ochraceus* presentes na casca de mandioca, *A. niger*, *A. flavus* e *A. ochraceus*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.* no bagaço de coco babaçu e verificaram que a casca de mandioca e o bagaço de coco babaçu possuem potencial de controle da fusariose do maracujazeiro amarelo.

Cruz et al. (2013), em seu trabalho com resíduos orgânicos de leguminosas no controle da fusariose em tomateiro, verificaram uma diversidade de espécies fúngicas, destacando-se *A. niger*, *A. flavus*, *R. stolonifer*.

As análises microbiológicas são importantes para quantificar e identificar as comunidades microbianas presentes no resíduo e relacioná-la ao controle da doença, pois sabe-se que no controle de fitopatógenos com a incorporação de resíduos orgânicos existem alguns princípios que o torna possível, a escassez de alimento para o patógeno é um deles, pois o aumentando a comunidade microbiológica do solo aumenta-se também a competição por recursos em geral e a disponibilidade de alimentos tende a diminuir (Ferreira, 2009, p. 41).

Nas palavras de Postma et al. (2008) e Ferreira (2009), um dos fatores preponderante que influenciam para o controle são a liberação de substâncias tóxicas pelos microrganismos que podem causar inibição do desenvolvimento ou até eliminar o patógeno, além de aumentar a população de microrganismos antagonísticos durante o processo de decomposição dos resíduos orgânicos, contribuindo para o aumento da diversidade microbiológica do solo.

#### **4.5.2 Características das propriedades químicas dos resíduos orgânicos e análise química do solo**

Em relação a análise química dos resíduos orgânicos (Tabela 9), pode-se verificar que houve diferença nos teores nutricionais entre os resíduos testados. Observa-se que os resíduos de casca de coco e mandioca apresentaram uma alta relação carbono/nitrogênio (C/N) em comparação com os demais resíduos, com 25,35 e 23,85 respectivamente. Esse resultado se assemelha aos encontrados por Nascimento Júnior (2015); Wong et al. (2011) para C/N em casca de mandioca. Segundo Veras (2006), a alta relação (C/N) indica baixa degradabilidade, tornando possível a supressividade contra patógenos. Conforme Nascimento Júnior (2015), uma relação de C/N de 24:1 aumenta os níveis populacionais de microrganismos antagonísticos

por um período mais longo no solo. A mais baixa relação carbono/nitrogênio foi verificada para o nim. O resíduo de pimenta-do-reino apresentou os maiores teores de nitrogênio ( $33,8 \text{ g.Kg}^{-1}$ ), fósforo ( $2,7 \text{ g.Kg}^{-1}$ ), potássio ( $20,9 \text{ g.Kg}^{-1}$ ) e sódio ( $6 \text{ g.Kg}^{-1}$ ). O resíduo de nim apresentou os maiores teores de cálcio, magnésio e cobre, com  $40,5 \text{ g.Kg}^{-1}$ ,  $4,8 \text{ g.Kg}^{-1}$  e  $86,8 \text{ g.Kg}^{-1}$ , nessa ordem. O resíduo de eucalipto mostrou o maior teor de manganês com  $249,7 \text{ g.Kg}^{-1}$  seguido por pimenta-do-reino com  $117,6 \text{ g.Kg}^{-1}$ . Resultados similares foram encontrados nos estudos de Ferreira (2009) apenas para o resíduo de eucalipto. Os maiores teores de ferro foram observados nos resíduos de casca de coco e pimenta-do-reino, com  $486,7$  e  $376,9 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , como também os maiores teores de zinco, com  $27,3$  e  $23,9 \text{ mg.Kg}^{-1}$  respectivamente.

De acordo com Ferreira (2009), a relação C/N e C/P são fatores importantes na decomposição do material vegetal, a baixa relação C/N; C/P, polifenóis e ligninas, são considerados resíduos orgânicos ideais, de alta qualidade, onde são mais degradados rapidamente, o que difere dos que apresentam baixa qualidade, que possui alta relação de C/N e C/P e polifenóis, ligninas, que são usados para aumentar exclusivamente a atividade microbiana e da relação entre os microrganismos presentes no agroecossistema. Segundo Bailey et al. (2003), a união dos dois fatores, podem agir de forma positiva, aumentando a atividade microbiana do solo, além de aumentar a diversidade e as relações entre os microrganismos constituintes.

Tabela 9 - Características químicas dos resíduos orgânicos analisados.

<b>RESÍDUOS ORGÂNICOS</b>	<b>C:N</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Na</b>	<b>Ca<sup>+2</sup></b>	<b>Mg<sup>+2</sup></b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
<b>Nim</b>	11,4	29,5	0,7	12,9	3,7	40,5	4,8	86,8	313,5	15,9	13,3
<b>Eucalipto</b>	18,17	25,8	0,9	4,8	2,7	13,6	3,9	15,9	330,2	249,7	23,6
<b>Pimenta-do-reino</b>	11,75	33,8	2,7	20,9	6	16,9	4,3	33,6	376,9	117,6	23,9
<b>Casca de coco</b>	25,35	17,2	0,8	15,2	5,8	3,4	1,8	20,2	486,1	28,8	20
<b>Casca de mandioca</b>	23,85	18,4	1,4	5,9	2,1	3,2	1,1	85,4	355,8	28,8	27,3

\*Os valores de N, P, K, Na, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> são representados em  $\text{g.Kg}^{-1}$ .

\*\*Os valores de Cu, Fe, Mn, Zn são representados em  $\text{mg.Kg}^{-1}$ .

Em relação a fertilidade, o solo, classificado como latossolo amarelo coeso distrófico (EMBRAPA, 1999) apresentou um pH em água (6,2) com acidez fraca, fósforo  $4 \text{ mg.dm}^{-3}$  (médio), potássio  $45 \text{ mg.dm}^{-3}$  (médio), cálcio  $25 \text{ mmolc.dm}^{-3}$  (médio), magnésio  $15 \text{ mmolc.dm}^{-3}$



<sup>3</sup> (alto) e saturação por bases V=72,4% (alto), conforme Trani (2007), solo considerado de boa fertilidade (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise química do solo, utilizado nos experimentos.

Ph (água)	V (%)	P	K	Ca	Mg
		(mg.dm <sup>-3</sup> )		(mmolc.dm <sup>-3</sup> )	
6,2	72,4	4	45	25	15

#### 4.5.3 Efeito da incorporação de matéria orgânica no controle da fusariose em pimenta-do-reino

A Tabela 11 apresenta os resultados da primeira avaliação (30 dias) dos resíduos orgânicos sobre a incidência da fusariose em mudas de pimenta-do-reino. Observa-se que houve uma interação significativa ( $p < 0,01$ ) entre os resíduos orgânicos sob as diferentes dosagens, mostrando que a incidência da doença, depende das doses incorporadas ao solo dos resíduos orgânicos testados, assim sendo, as variáveis foram desdobradas para os resíduos orgânicos dentro de cada dose e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Para a incidência da doença em função das doses usadas para cada resíduo orgânico, aplicou-se regressão.

Observa-se que todos os resíduos orgânicos e suas respectivas doses, proporcionaram bons níveis de controle sobre a incidência da doença fusariose em mudas de pimenteira-do-reino. Esses tratamentos impediram o desenvolvimento do *Fusarium solani*, diferentemente da testemunha, que obteve o maior índice de incidência da doença com 75%.

O resíduo orgânico de folhas de eucalipto (FE) na dose de 75 e 100 g.Kg<sup>-1</sup> e resíduo orgânico de folhas de pimenta-do-reino (FPR) na dose de 50 g.Kg<sup>-1</sup> promoveram os melhores resultados, as plantas não apresentaram sintomas externos da fusariose. Verifica-se que na dose de 25 g.Kg<sup>-1</sup>, os resíduos de pimenta-do-reino (FPR) e nim (FN) proporcionaram os menores índices de doença com 25% respectivamente. Para os resíduos de eucalipto (FE), casca de coco (CC) e casca de mandioca (CM) não apresentaram diferença significativa, com 50% respectivamente de índice de doença. Na dose de 50 g.Kg<sup>-1</sup>, observa-se que os resíduos de folhas de eucalipto (FE), nim (FN) e casca de mandioca (CC) proporcionaram bons resultados com 25% de incidência da doença, não diferindo entre si, diferindo-se dos resíduos de folhas de pimenta-do-reino (FPR) e casca de mandioca (CM), com 0 e 50% nessa ordem. Para a dose de

75 g.Kg<sup>-1</sup> e 100 g.Kg<sup>-1</sup> mostraram-se os mesmos resultados, não havendo diferença significativa, demonstrando alta eficiência no controle da fusariose.

Tabela 11 - Efeito de resíduos orgânicos de folhas pimenta-do-reino (FPR), eucalipto (FE), nim (FN), casca de coco (CC) e casca de mandioca (CM) em diferentes concentrações no controle da fusariose aos 30 dias após a inoculação.

RESÍDUOS ORGÂNICOS	DOSES (g.Kg <sup>-1</sup> )				TESTEMUNHA	FUNGICIDA (0,2 g/100 mL)
	25	50	75	100		
FPR	25 aA	0 aB	25 bA	25 Ba		
FE	50 bA	25 bB	0 aC	0 aC		
FN	25 aA	25 bA	25 bA	25 bA	75	25
CC	50 bA	25 bB	25 bB	25 bB		
CM	50 bA	50 cA	25 bB	25bB		
CV%					8,6	

\*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Os resultados do presente estudo, demonstram certa eficiência dos diferentes resíduos orgânicos que incorporados ao solo promoveram a redução da incidência da doença. Vale ressaltar que tal eficiência deve-se provavelmente as atividades antimicrobianas e pela união de todos os fatores envolvidos na supressividade de solos a fusariose, como os fatores bióticos e abióticos. Diversos pesquisadores comprovam a eficiência da incorporação dos resíduos no solo no controle de fitopatógenos.

Nascimento Júnior (2015), avaliando o efeito da incorporação de casca de mandioca em diferentes doses sobre o controle de *Phytophthora sp.*, agente causal da podridão radicular na cultura da mandioca, obteve a partir da incorporação de 100 g.Kg<sup>-1</sup> no solo, um aumento de 62,45% em plantas sem sintomas. Ferreira et al. (2015), observaram que a incorporação de 80 g.Kg<sup>-1</sup> de casca de mandioca foi eficiente no controle da fusariose em maracujazeiro amarelo. Veras (2006), avaliando os efeitos da casca de mandioca no controle da fusariose em quiabeiro, verificou que quando incorporou 100 g.Kg<sup>-1</sup> aos 30 dias, obteve maior supressividade a doença, reduzindo conseqüentemente os efeitos da fusariose. Em estudos realizados por Amorim et al.

(2005), verificaram que a incorporação de 20% de casca de mandioca conseguiu controlar *P. drechsleri* em mandioca.

Resultados contrários a essa pesquisa foram encontrados por Ferreira et al. (2015), que avaliando o efeito de resíduo de eucalipto nas doses de 20, 40, 60, 80 e 100 g.Kg<sup>-1</sup> no controle da fusariose na cultura do maracujá, não obtiveram controle da doença, todas as doses testadas não diferiram da testemunha. Ambrósio et al. (2008), estudando a eficiência da incorporação de folhas de eucalipto não obtiveram controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 2, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*.

Em maracujá amarelo, Ferreira (2009), verificou que a incorporação de nim nas doses de 20 e 40 g.Kg<sup>-1</sup> proporcionaram uma redução de 55,55% na severidade da fusariose. Veras (2006), conseguiu uma redução de 64,3% na severidade da fusariose em quiabeiro ao incorporar 20 g.Kg<sup>-1</sup> de resíduo de nim.

Vale ressaltar que, existem poucas pesquisas com a utilização de resíduos de folhas de pimenta-do-reino voltadas ao controle de fitopatógenos, são praticamente escassos na literatura.

De acordo com as análises de regressão, as reduções dos índices de doença perante as doses dos resíduos orgânicos testados, apresentaram um melhor ajuste em equação linear, conforme (Figura 16).

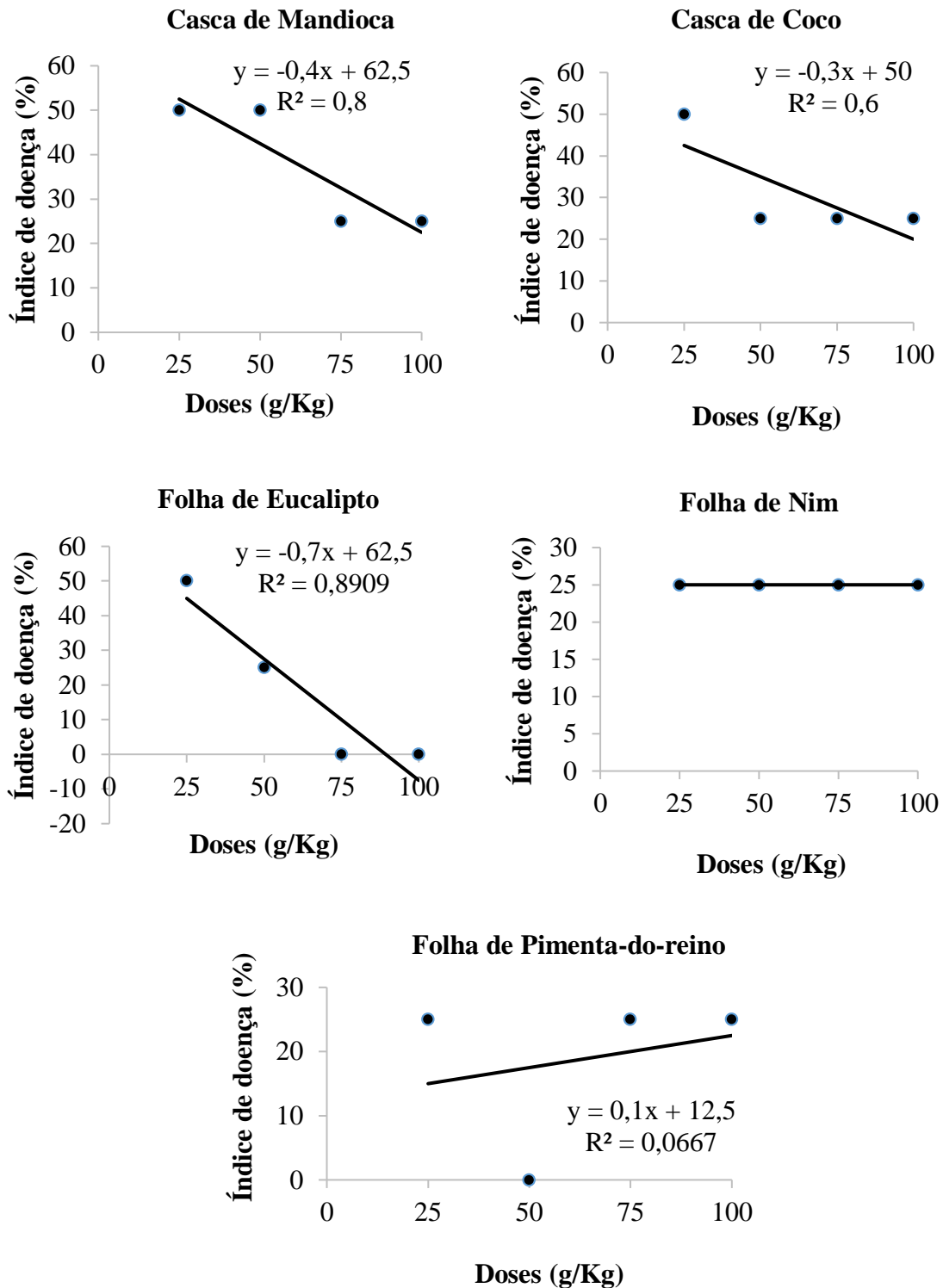
As doses do resíduo orgânico de casca de mandioca (CM) apresentou comportamento de forma linear com coeficiente de determinação de 80%, observa-se que houve decréscimo no índice de doença, quando se aumentam as doses. Conforme o modelo linear, a dose de 156,25 g.Kg<sup>-1</sup> de (CM) proporciona a maior eficiência com 0% de índice de doença, ou seja, plantas totalmente sem sintomas da fusariose. Observa-se o comportamento da incidência da doença à medida que aumentam as dosagens do resíduo orgânico de casca de coco (CC). O melhor modelo ajustado foi o linear, com um coeficiente de determinação de 60%. Com o aumento da doses de (CC) nota-se uma redução no índice de doença.

O resíduo orgânico de folhas de eucalipto (FE), apresentou um melhor ajuste no modelo linear com coeficiente de determinação de 89% entre o índice de doença e as doses do resíduo. Nota-se que o índice da doença decresceu de maneira linearmente com o aumento das doses do resíduo incorporadas no solo. Conforme o modelo linear determinou-se a maior dose de maior eficiência prevista para obter nenhum índice de doença na pimenteira-do-reino, com uma dose de 89,28 g.Kg<sup>-1</sup> de (FE). Para o resíduo orgânico de folhas de nim, percebe-se que

não houve modelo equacional adequado para expressar ou relacionar as doses sobre o índice de doença, todas as doses apresentaram os mesmos percentuais de incidência, com 25%, indicando que não existe diferença significativa entre as doses, porém mostraram-se muito eficiente sobre a incidência da fusariose em mudas de pimenta-do-reino. Para o resíduo de folhas de pimenta-do-reino, adequou-se melhor ao modelo linear, com coeficiente de determinação de 6,67%. Apesar do baixo ( $R^2=0,0667$ ), foi verificado que o aumento das doses não houve diferença significativa entre si, diferindo apenas da dose de  $50 \text{ g.Kg}^{-1}$ .

Os resultados no presente trabalho, mostram que todos os resíduos orgânicos testados foram capazes de reduzir de forma considerável o índice de doenças nas mudas de pimenta-do-reino. Isso deve-se possivelmente a diversos fatores envolvidos dentre eles: as substâncias com a atividade antifúngicas, a ativação dos próprios mecanismos de defesa da planta, a presença dos microrganismos presentes nos resíduos orgânicos, enfim, aos fatores bióticos e abióticos que contribuíram para a redução dos percentuais de incidência da fusariose, favorecendo o controle da doença.

Figura 16 - Efeito da incorporação de diferentes doses de resíduos orgânicos no controle da fusariose de pimenta-do-reino.

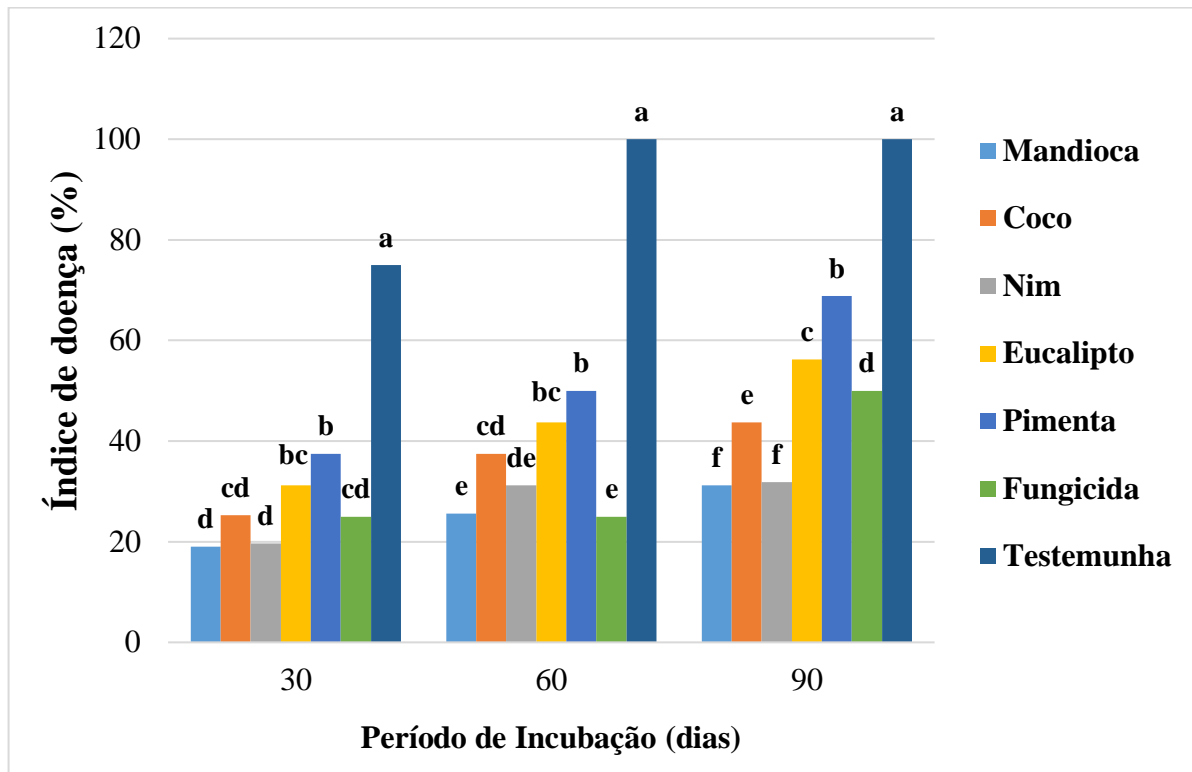


A Figura 17 apresenta os efeitos das médias gerais dos resíduos orgânicos sobre a incidência da fusariose em três épocas de avaliação (30, 60 e 90 dias) após a inoculação de

*Fusarium solani* em mudas de pimenta-do-reino. Considerando as três épocas de avaliação, pode-se observar um aumento bem significativo da incidência da doença ao longo dos três meses para cada resíduo orgânico testado. Na primeira avaliação (30 dias), os resíduos de nim e casca de mandioca, apresentaram as melhores médias sobre a incidência da doença, com 19,62 e 19% respectivamente, não diferindo do resíduo de casca de coco e do fungicida, com médias de 25,25 e 25% nessa ordem. Verifica-se que os resíduos de folhas de eucalipto e pimenta-do-reino não houve diferença significativa entre si, apresentando médias de 31,25 e 37,5% de índice de doença. Todos os resíduos orgânicos estudados diferiram da testemunha e proporcionaram bons resultados na redução da incidência da fusariose, com médias abaixo de 40%. Para a segunda avaliação (60 dias), observa-se que a testemunha diferiu de todos os resíduos, atingindo o nível de com 100% de incidência da doença. Os resíduos orgânicos de casca de mandioca e folhas de nim, proporcionaram os mais baixos índices de doença, com 25,62 e 31,25% respectivamente, seguidos pelos resíduos de casca de coco, folhas de eucalipto e de pimenta-do-reino, com médias de 37,5, 43,75 e 50% de índice de doença, respectivamente. Para o fungicida, observa-se o mesmo percentual de incidência do mês anterior com 25%.

Comparando-se os resultados das duas avaliações anteriores, verifica-se o aumento do progresso da doença ao longo dos três meses. Para a avaliação da incidência (90 dias), foi verificado através dos sintomas externos e internos. Os resíduos orgânicos de casca de mandioca e folhas de nim promoveram os menores índice de doença com 31,25 e 31,87%, respectivamente, diferindo-se dos demais tratamentos. O resíduo de casca de coco, mostrou-se como o terceiro melhor resultado sobre a incidência da doença com uma média de 43,75%, seguidos pelos resíduos de folhas de eucalipto, pimenta-do-reino e do fungicida com 56,25, 68,81 e 50% nessa ordem. A testemunha manteve os 100% de índice da doença, iguais a avaliação anterior.

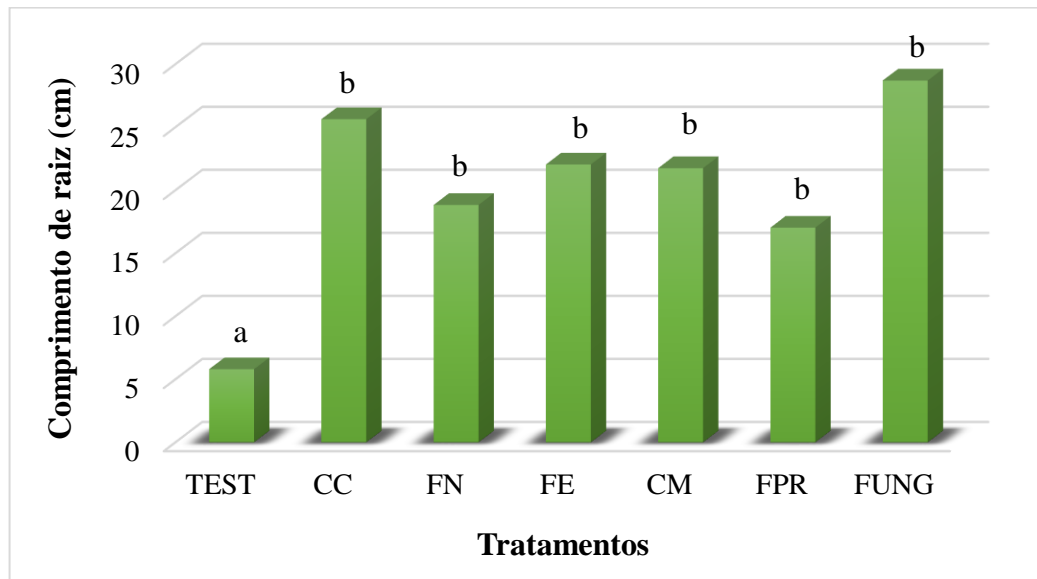
Figura 17 - Efeito de resíduos orgânicos sobre a incidência da fusariose aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação de *Fusarium solani* em mudas de pimenta do reino.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

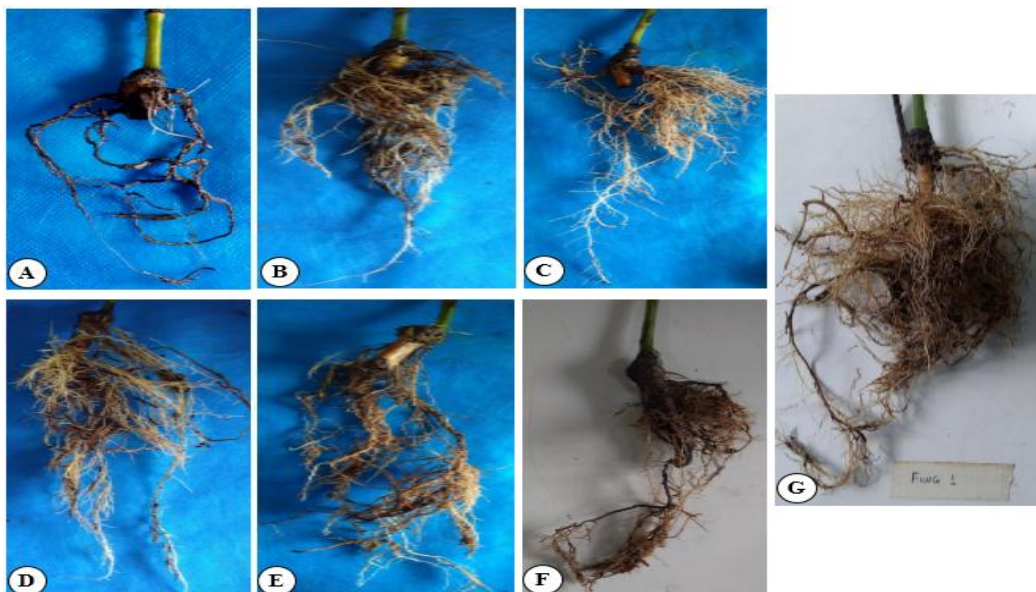
Com relação ao efeito dos resíduos orgânicos sobre o comprimento de raiz, verificou-se que não houve interação significativa entre os fatores estudados. A Figura 18, representa os resultados das médias gerais das quatro doses usadas de cada resíduo orgânico sobre a variável comprimento de raiz, mais o fungicida com a testemunha. Observa-se que não houve diferença significativa entre os resíduos orgânicos de casca de coco (CC), folhas de nim (FN), folhas de eucalipto (FE), casca de mandioca (CM) e folhas de pimenta-do-reino (FPR), comprimento de raiz de 5,8, 25,63, 18,83, 22,04, 21,75, 17,03 e 28,7 cm, respectivamente. A testemunha apresentou o menor comprimento de raiz com 5,8 cm, diferindo-se dos demais tratamentos, indicando que o *Fusarium solani* foi mais agressivo, dificultando o desenvolvimento do sistema radicular da pimenteira-do-reino, conforme pode ser observado na (Figura 19).

Figura 18 - Efeito dos resíduos orgânicos no comprimento da raiz em mudas de pimenta-do-reino na fusariose causada por *Fusarium solani*.



\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 19 - Efeitos dos resíduos orgânicos sobre o desenvolvimento do sistema radicular de mudas de pimenta-do-reino aos 90 dias após a inoculação com *Fusarium solani*. Testemunha (A); Casca de Coco (CC) (B); Folhas de Nim (FN) (C); Folhas de Eucalipto (FE) (D); Casca de Mandioca (CM) (E); Folhas de Pimenta-do-reino (FPR) (F) e Fungicida (G).



Fonte: GOMES FILHO, J, 2017



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de controle alternativo para as doenças de plantas cultivadas, vem sendo pesquisados como forma de tentar minimizar os efeitos dos produtos químicos na agricultura.

Diversos trabalhos já comprovaram os efeitos positivos do uso de extratos vegetais e de óleos essenciais como indutores de resistência ou diretamente sobre fitopatógeno e da incorporação de resíduos orgânicos para controlar doenças causadas por patógenos veiculados pelo solo. Esse controle é favorecido pelo complexo de substâncias biofungicidas presentes nos produtos naturais e por vários fatores (bióticos e abióticos) que em completa harmonia natural, contribuem para a supressividade de solos a patógenos radiculares.

Com base nos resultados apresentados, o presente estudo apresentou possibilidades do uso do extrato bruto aquoso de melão-de-são caetano, do óleo essencial de hortelã e da incorporação dos resíduos orgânicos de casca de mandioca e de coco e folhas de nim no controle da fusariose em mudas de pimenteira-de-reino, uma vez que promoveram os menores índice da doença, ressaltando a importância de estudos de produtos alternativos com essa finalidade.

## 6 CONCLUSÕES

- ✓ Os óleos essenciais de hortelã e nim ( $50$  e  $75 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e os extratos de melão-de-são caetano e mandioca ( $10$  e  $15\%$ ) proporcionam os maiores percentuais de inibição micelial de *Fusarium solani*.
- ✓ O extrato bruto aquoso de melão-de-são caetano ( $15\%$ ) e o óleo essencial de hortelã ( $75 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) promovem os menores índice da doença.
- ✓ A incorporação dos resíduos orgânicos de casca de mandioca e de coco e folhas de nim são eficientes no controle da fusariose em mudas de pimenteira-de-reino.

## REFERÊNCIAS

ABREU, M. G. P.; TAVELLA, L. B.; FERREIRA, J.B.; ARAÚJO, M. L.; ARAÚJO, J. M. Potencial fungitoxico dos óleos de mururu (*Astrocaryum ulei* Mart.) e coco (*Cocos nucifera* L.) sobre *Colletotrichum gloeosporioides* no maracujá. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 10, n. 19; p. 1515, 2014.

ALBUQUERQUE, F. C. et al. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococca f. sp. piperis*. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 31, n. 3, p. 341 – 348, ago. 2001.

ALBUQUERQUE, F. C.; CONDURU, J.M.P. **Cultura da pimenta-do-reino na região amazônica**. Belém: IPEAN, 1971. (Série Fitotecnia, v.2. n.3).

ALBUQUERQUE, FC de; DUARTE, M. Relacao entre *Fusarium solani f. sp. piperis* e o mal de mariquita da pimenta do reino. 1972.

ALBUQUERQUE, F. C.; FERRAZ, S. Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococca f. sp. piperis* e sua patogenicidade à pimenta-do-reino. **Experientiae**. v.22, p. 133-151, 1976.

ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3 p. 403-410, 1990.

ALVES, D. A. S. **Secagem de pimenta-do-reino preta (*Piper nigrum* L.) em secador de leite fixo**. UFSCar. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, 2015.

AMORIM, E. P. R.; CARNAUBA, J. P.; SILVA, J. C.; SOBRAL, M. F. Efeito de resíduo orgânico sobre a incidência da podridão radicular da mandioca (*Phytophthora drechsleri*). **Fitopatolbras**, Brasília, v. 30, p. 115, 2005.

AMANDIOHA, A. C. Controlling Rice blast “in vitro” and “in vivo” with extracts of *Azadirachta indica*. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, n.5, p.287-290, 2000.

AMAGASE, H. et al. Intake of garlic and its bioactive components. **Journal of Nutrition, Philadelphia**, v. 131, p. 955-962, 2001.

AMARAL, M. F. Z. J.; BARA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 2, n. 1, p. 5-8, 2005.

AMORIM, E. P. R. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Ralstonia solanacearum* em mudas de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. esp. 1, p. 392-398, 2011.

AMINI, M.; SAFAIE, N.; SALMANI, M. J.; SHAMS-BAKHSH, M. Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. **Trakia Journal of Sciences**, v.10, n.1, p.1-8, 2012.

ANDO, A. et al. Obtenção de mutantes resistentes a fusariose (*Fusarium solani f. sp. piperis*) em pimenta-do-reino por meio de irradiação gama. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA E CUPUAÇU, 1. **Anais**. Belém: EMBRAPA-CPATU/JICA, 1996. p. 237-243. (Documentos, 89).

ANDRADE, S. P. **Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae)**. Osasco, SP: Revista PIBIC, v.3, n.2, p. 151-158. 2006.

ARIAS, T., POSADA, R. C. & BORNSTEIN, A. New combinations in *Manekia*, an earlier name for *Sarcorrhachis* (Piperaceae). **Novon**. v. 16, p. 205-208, 2006.

BAKER, R.; COOK, J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: Freeman, 1974. 433 p.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARROS, L.S.; ADORIAM, A.I.; KOBAYASTI, L. Uso de extratos vegetais na inibição do crescimento micelial in vitro de *Acremonium sp.* e *Fusarium verticillioides*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v.9, n. 16; p.2072, 2013.

BARROS, L. S. **Controle de fitopatógenos com extratos vegetais**. 2015. 78 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, Cuiabá, 2015.

BENATO, E. A. et al. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 299-304, 2002.

BENCHIMOL, R. L. et al. Controle da fusariose em plantas de pimenta-do-reino com bactérias endofíticas: sobrevivência e respostas morfofisiológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1343-1348, jul. 2000.

BETTIOL, W. et al. Bioprotetores comerciais para o controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 17, p. 111-147, 2009.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32: 588-594, 2009.

BLOK, W.J. et al. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. St. Paul.: **Phytopathology**, v. 90, n. 3, p. 253-259. 2000.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, v.33, n.4, p.383-387, 2007.

BRITO, W. U. et al. **Isolamento, caracterização e expressão em sistema bacteriano de um gene que codifica uma proteína transportadora de lipídeos de *Piper nigrum***. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará.

CARNAUBA, J. P. et al. Ocorrência de *Fusarium solani* f. sp. *Piperis* em *piper nigrum* no estado de Alagoas. **Summa phytopatológica**, v. 33, n. 1, p. 96-97, 2007.

CARBONE, Ignazio; KOHN, Linda M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**, p. 553-556, 1999.

CARVALHO, Paulo Roberto Santos. Extratos vegetais: potencial elicitor de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro. 2010.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

CASTRO, R. A.; MENDES-COSTA, M. C.; CASTRO, A. H. F.; FRANGAZ, A. C.; GUIMARÃES, I.; NEVES, N. G. Atividade fungitóxica do óleo fixo e de extratos de mamona em *Colletotrichum lindemuthianum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA. **Resumos**, p. 121 – 122. Aracaju, 2006.

CASTRO, R. A. et al. Avaliação biológica do óleo fixo de extratos de *Ricinus communis L.* em *Fusarium sp.* In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 2., 2005, Varginha. **Anais...** Varginha, 2005, p. 645-649.

CAFÉ-FILHO, A. C.; LOBO-JÚNIOR, M. Manejo de fatores físicos e culturais para controle de patógenos de solo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 267-301, 2000.

CAVALCANTE, M. J. B.: **Sistema de produção da Pimenteira-do-reino. Cultivo da Pimenta-do-Reino na Região Norte**. Pará: EMBRAPA, 2005. Disponível em: <http://www.sistemasdeprodução.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/index.htm>. Acesso em Julho de 2016.

CHU, E. Y. et al. **Pimenta-do-reino**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2006. (Coleção Plantar; Série vermelha fruteiras).

CELOTO, M. I. B. et al. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia L.* sobre *Colletotrichum musae*. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 3, p. 337-341, 2011.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; RESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L. M. Perry* sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n.2, p.240-245, 2011.

COUTINHO, Ingrid Bernardo Lima; GAGLIARD, Paulo Roberto; OOTANI, Marcio Akio. ATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc EM MELOEIRO. **Essentia-Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA**, v. 16, n. 2, 2015.

CRUZ, S. M. D. C.; RODRIGUES, A. A. C.; SILVA, E. K. C.; OLIVEIRA, L. D. J. M. G. Supressividade por incorporação de resíduo de leguminosas no controle da fusariose do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 180-185, 2013.

D'ADDAZIO, Veronica et al. Evaluation of in vitro inhibition of mycelial growth of *Fusarium solani f. sp. piperis* by different products in Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 47, p. 1992-1998, 2016.

DARIVA, J. M. Fusarioses do maracujazeiro: etiologia e sintomatologia. 2011. 71 p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2011.

DA SILVA, J. L. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 80-86, 2012.

DE ABREU, Marcos Giovane Pedroza et al. POTENCIAL FUNGITOXICO DOS ÓLEOS DE MURMURU (*Astrocaryum ulei* Mart.) E COCO (*Cocos nucifera* L.) SOBRE *Colletotrichum gloeosporioides* NO MARACUJÁ. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.19; p. 2014.

DELGADO, F. **Aspectos culturais e prospecção de compostos com atividade biológica do coentro (*Coriandrum sativum* L.)**. Lisboa: Universidade técnica de Lisboa, 1993. 107p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal).

DESER. Departamento de estudos socioeconômicos. Secretaria de Agricultura Familiar. Curitiba, novembro, 2008.

DIAS, Fabiana Miranda et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* "in vitro". **Cadernos de Agroecologia**, v. 11, n. 2, 2016.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, L. da R.; ARIEIRA, J. de O.; MIGUEL, E. G.; DONEGO, M. A.; RIBEIRO, R. C. F. Atividade do óleo de *Eucalytus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 36, n. 3, p. 223-232, set. 2010.

DINIZ, Lylian P. et al. Avaliação de produtos alternativos para controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 171-179, 2006.

DOS SANTOS, G.R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.3, p.587-593, 2013.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation produce for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.

DRUMOND NETO, A. P. **Distribuição espacial e correlação da incidência de fusariose em pimenta-do-reino com atributos do solo**. 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus – ES. 2012.

DUARTE, M. L. R.; ALBUQUERQUE, F. C. Eficiência de diferentes fungicidas no tratamento de estacas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) infectadas por *Nectria haematococca* (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 2, p. 169-175, 1980.

DUARTE, M.L.R.; Albuquerque, F.C.; Albuquerque, P.S.B. Doenças da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum*). In Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (eds). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.507-516.

DUARTE, Maria de Lourdes Reis. ed. **Doenças de plantas no Trópico Úmido brasileiro**. I. Plantas industriais. Belém: Embrapa Amazônica Oriental, 1999. p.296

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of bendizazole compounds. **Phytopathology**, v. 61, p. 42-44, 1971.

ELAD, Yigal et al. Induction of systemic resistance in plants by biochar, a soil-applied carbon sequestering agent. **Phytopathology**, v. 100, n. 9, p. 913-921, 2010.

EMATER - Agência Goiana de Assistência Técnica, Extensão Rural e Pesquisa Agropecuária. Perspectivas e potencialidades do mercado para pimentas. Disponível em [www.emater.go.gov.br](http://www.emater.go.gov.br).

EMBRAPA. **Manual Segurança e Qualidade para a cultura da Pimenta-do-Reino**, EMBRAPA/SEDE, Brasília, 2004.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Editora e Gráfica UFPel, 1995. p. 179.

FARIA FILHO, A. F. **Pimenta-do-reino – uma das mais importantes especiarias do mundo**. Belém, 2002.



FEITOSA S.S.; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, E. P; ALVES, S.S.V. Controle de patógenos pós-colheita em frutos de cajazeira com defensivos naturais e indutores de resistência. In: Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura; 2008; Vitória. [CD-ROM].

FIGUEIREDO, A. C. et al. Plantas aromáticas e medicinais: da mata experimental do escaroupim e do campo de tiro. 2013.

FILGUEIRAS, G.C.; HOMMA, A.K.O.; SANTOS, M.A.S.; JUNIOR, K.J.A.M.; SILVA, S.C. A exploração da pimenta-do-reino como alternativa de sustentabilidade socioeconômica e ambiental no Estado do Pará. VI Encontro Nacional da Anppas, Belém – PA – Brasil, 2012.

FREIRE, M. M. **Composição e atividade antifúngica do óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.). 2006. 67 f.** 2006. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

FERREIRA, R; RODRIGUES, A.; CATARINO, A; MORAES, F. Utilização dos resíduos orgânicos de nim e citronela no controle de *Fusarium oxysporum f. sp. passiflorae* em maracujazeiro amarelo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 4, n. 2, p. 893-896, 2009.

FERREIRA, R. B. et al. RESÍDUOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DE *Fusarium oxysporum f. sp. passiflorae* EM MARACUJAZEIRO AMARELO. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 3, p. 111, 2015.

FISCHER, Ivan Herman et al. Reação de maracujazeiro-amarelo ao complexo fusariose-nematoide de galha. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 223-227, Apr./Jun. 2010.

FORNER, C. **Avaliação de resíduos orgânicos para o manejo da fusariose em diferentes patossistemas.** 2016. 94 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2016.

FUKUTOMI, Hiroshi; HORIUCHI, Ryo. Stress Induced Migration of Symmetric Tilt Boundaries in Aluminum. **Transactions of the Japan Institute of Metals**, v. 22, n. 9, p. 633-642, 1981.

FRANCO, D. A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 25, p. 602-606, 2000.

GALLETTI, S.; FORNASIER, F.; CIANCHETTA, S.; LAZZERI, L. Soil incorporation of brassica materials and seed treatment with *Trichoderma harzianum*: Effects on melon growth and soil microbial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 4, p. 1-6, 2015.

GARCIA, Riccely Ávila et al. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*= Antifungal activity of vegetable oils and extracts against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, 2012.

GHINI, R.; NAKAMURA, D. SHAWT K. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividade de solos a *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* em microcosmo e in vivo. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 27, p. 318-322, 2001.

GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**. v.119, p.731-737, 2010.

GREEN, Martin A. et al. **Third generation photovoltaics**. New York: Springer, 2006.

GURJAR, M. S.; ALI, S.; AKHTAR, M.; SINGH, K. S.; KANGABAM, S. Efficacy of plant extracts in plant disease management. **Agricultural Sciences**, v.03, n.03, p.425-433, 2012.

HARAN, S.; SCHICKLER, H.; OPPENHEIM, A.; CHET, I. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. **Phytopathology**, v. 86, p. 980-985, 1996.

HARISH, S. et al. Mycotoxic effect of seed extracts against *Helminthosporium oryzae* Breda de Hann, the incitant of ricebrown spot. **Journal of Biological Sciences**, v. 4, p.366-369, 2004.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plantpropagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. p. 880.

HOMMA, Alfredo K. Amazônia. **Meio ambiente e desenvolvimento agrícola. Brasília: EMBRAPA**, 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Pesquisa Mensal de Previsão e Acompanhamento das Safras Agrícolas no Ano Civil**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 29 n. 12 p. 1-82 Dezembro. 2016.

IKEDA, K. Role of perithecia as an inoculum source for stem rot type of pepper root rot caused by *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (teleomorph: *Nectria haematococca* f.sp. *piperis*). **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 76, n. 4, p. 241-246, Aug. 2010.

KIMATI, H., et al. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. v.2, São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1997.

KISHORE, G. K.; PANDE, S. Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot disease in peanut. **Plant Disease**, Quebec, v. 9, n. 4, p. 375- 380, 2007.

LAMEIRA, C. N. **Atividade do óleo-resina de copaifera reticulata Ducke no crescimento micelial in vitro de fitoptógenos**. 2007. 36 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Área de Concentração Produção Vegetal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2007.

LEITE RP, MEDEIROS JGF, NASCIMENTO LC. Produtos naturais e seus efeitos sobre a micoflora e fisiologia em sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.). In: Seabra G, Mendonça I, **Educação ambiental: Responsabilidade para a conservação da sócio biodiversidade**. João Pessoa: Editora Universitária; 2011.

LEITE, C. D. et al. Extrato de alho no controle *in vitro* e *in vivo* da antracnose da videira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 556-562, 2012.

LEMOS, O. F. **Mutagênese e tecnologia in vitro no melhoramento genético da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)**. Piracicaba, 2003. 159 p. Tese (doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. *The Fusarium laboratory manual*. Malden: Blackwell, 2006. p. 420

LIMA, J. S. S.; OLIVEIRA, R. B.; ROCHA, W.; OLIVEIRA, P. C.; QUARTEZANI, W. Z. Análise espacial de atributos químicos do solo e da produção da cultura pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **IDESIA** (Chile), v.28, nº 2, p. 31-39, Maio - Agosto, 2010.

LINDSEY, K. L.; VAN STADEN, J.; ELOFF, J. N. Growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of *Allium sativum* and *Tulbaghia violacea*. **South African Journal of Botany**, v. 70, n. 4, p. 671-673, 2004.

LOURINHO, M.P.; COSTA, C.A.S.; SOUZA, L.C.; SOUZA, L.C.; NETO, C.F.O. Conjuntura da pimenta-do-reino no mercado nacional e na região Norte do Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.10, n.18, p.1016-1031, 2014.

LUSTOSA, Denise Castro et al. 12227-Uso de óleos essenciais no controle de fitopatógenos de espécies florestais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.

MAGEVSKI, G. C.; CZEPAK, M. P.; SCHMILDT, E. R.; ALEXANDRE, R. S.; FERNANDES, A. A. Propagação vegetativa de espécies silvestres do gênero *Piper*, com potencial para o uso como porta enxertos em pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, especial, p. 559-563, 2011.

MAIA, Aline José et al. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução de resistência em videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 5, p. 330-339, 2014.

MATOS, K. S. **Identificação de espécies biológicas no complexo *Fusarium solani* – FSSC**. UFLA, 2011. 48 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

MDIC. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - MDIC. Sistema Alice web. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br> Acesso em: 21 out. 2016.

MEDEIROS, José George Ferreira et al. Extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de *Pterogynenitens* Tul. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 3, p. 384-390, 2013.

MEDICE, Regiane et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELO, D. S. et al. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a peroxidação lipídica, o perfil lipídico sanguíneo e o peso do fígado de ratos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 420 – 428, mar./abr. 2007.

MENEZES, M, Assis SMP (2004) Guia prático para fungos fitopatogênicos. 2ª ed. Recife PE. Imprensa Universitária da UFRPE.

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M.; MENEZEZ, M. (2005) Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: Michereff, S J, Andrade, DEGT, Menezes, M (Eds.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife. UFRPE Imprensa Universitária. pp 1-18.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.

MORANDI, Marcelo Augusto Boechat; BETTIOL, Wagner. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna**, p. 7-14, 2009.

MORANDI, M. A. B; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, p. 31-34, 2008. Suplemento.

NAKASONE, A. K.; BETTIOL, W.; SOUZA, R. M. Efeito de extratos aquosos de matéria orgânica sobre fitopatógenos. **Summa Phytopathol**, v. 25, n. 4, p. 331, 1999.

NASCIMENTO, D. M.; VIEIRA, G. H. C.; BATISTA, T. B.; KOYANAGUI, M. T.; BARDIVIESSO, E. M. Efeito de óleos essenciais sobre o crescimento micelial in vitro de *Fusarium solani f. sp. glycines*. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 10, n. 19; p. 874, 2014.

NASCIMENTO JÚNIOR, N. A. **Efeito da casca de mandioca no controle da podridão radicular causada por *Phytophthora sp.* em mandioca de mesa (*Manihot esculenta Crantz*) var. Rosinha em ambiente irrigado**. 2015. 82 f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo - AL, 2015.

NASCIMENTO, Daniele Maria et al. Controle in vitro do *Fusarium sp.* causador da fusariose na soja. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, 2015.

NASCIMENTO, Daniele Maria; DA COSTA VIEIRA, Gustavo Haralampidou; KRONKA, Adriana Zanin. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *FUSARIUM SOLANI F. SP. GLYCINES* COM O USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS. **REVISTA DE AGRICULTURA NEOTROPICAL**, v. 3, n. 4, p. 65-68, 2016.

NASSAR, N. et al. Cassava diversity in Brazil: the case of carotenoid-rich landraces. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 6, n. 1, p. 116 – 121, Jan./Feb. 2007.

NUNES, G. M. **Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.) do mamoeiro**. UFAL/CECA, 2011. 35 p. Trabalho de Conclusão de Curso.

OLIVEIRA, E.C.P.; LAMEIRA, O.A.; BARROS, P.L.C.; POLTRONIERI, L.B. 2006. Avaliação do óleo de copaíba (*Copaifera*) na inibição do crescimento micelial in vitro de fitopatógenos. **Revista Ciências Agrárias**, v. 46, p. 53-61, 2006.

OLIVEIRA, C. S. **Controle da fusariose da pimenta-do-reino com aplicação de trichoderma harzianum**. 2012. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus – ES. 2012.

ORTIZ, Emiro et al. Histopathological features of infections caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in purple passion fruit plants (*Passiflora edulis* Sims). **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 2, p. 134-140, 2014.

PAIVA, HN de; GOMES, J. M. Propagação vegetativa de espécies florestais. **Viçosa: UFV**, 1995.

PARK, I. K. et al. Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). **Nematology**, College Park, v. 7, p. 767-774, 2005.

PFENNING, L. H; LIMA, CS (2007). Descrição das espécies do workshop. In: Tropical Fusarium Workshop Anais Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

PRABHAKARAN NAIR, K.P. **Agronomy and economy of black pepper and cardamom. The “King” and “Queen” of Spices**. London: Elsevier Science Publishing, 2011. p.366

PONTE, J.J. **Cartilha da manipueira: uso do composto como insumo agrícola**. Fortaleza: Secretaria da Ciência e Tecnologia do Ceará, 1999. 53p.

POSTMA, J.; SCHILDER, M. T.; BLOEM, J.; LEEUWEN-HAAGSMA. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. **Soil Biology & Biochemistry**. v.40, n.2, p. 2394-2406, 2008.

RENTSCHLER, L. L. A. **Qualidade fisiológica e uso de extratos e óleos essenciais vegetais no controle de *Alternaria spp.* em sementes de cenoura**. 2014. 49 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, 2014.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.4, p. 1267 – 1271, out./dez. 1999.

ROCHA NETO, F. C. **Progresso espaço-temporal da fusariose em plantios de pimenta-do-reino**. 2013. 44 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus – ES. 2013.

ROCHA, Fernando da Silva et al. Caracterização de *Fusarium solani f. sp. piperis*, produção de fitotoxina e incidência da fusariose no norte de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 67-72, 2016.

RODRIGUES, R. S.; SILVA, R. R. A história sob o olhar da química: As especiarias e sua importância na alimentação humana. **Química Nova na Escola**, São Paulo, 2010. v. 32, n.2, p. 85.

RODRIGUES, Marianna dos Santos et al. 12458 - Atividade fungitóxica de hidrolatos de plantas medicinais. **Cadernos de Agroecologia**, [S.l.], v. 6, n. 2, nov. 2011. ISSN 2236-7934. Disponível em: <http://aba-agroecologia.org.br/revistas/index.php/cad/article/view/12458>. Acesso em: 13 jan. 2017.

SANTANA, Ana Paula dos Santos. **Efeitos de produtos alternativos no controle de doenças na videira**. 2015. 118 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2015.

SANTOS, I. P. S. **Controle alternativo da podridão radicular (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (Fabaceae)**. 2010. 54 f. Dissertação (mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2010.

SANTOS, D. V. **Controle alternativo da podridão seca de caule e raiz de graviola (*Annona muricata* L.) causada por *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl no estado de Alagoas**. 2015. 59 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2015.

SANTOS, M. Q. C. **Caracterização de *Pythium Cucurbitacearum*, e controle alternativo da podridão do colo e das raízes do mamoeiro, grupo solo, cultivar Golden**. 2015. 96 f. Tese (doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo - AL, 2015.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; SANTOS, G. R.; CASTRO, H. G.; GONÇALVES, C. G.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 29, n. 1, p. 1549-1557, 2013.

SCHERM, H. & YANG, X.B. Development of Sudden Death Syndrome of soybean in relation to soil temperature and soil water matric potential. *Phytopathology* 86: 642-649. 1996.

SCHERER, R. L. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmorosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas; STANGARLIN, José Renato; CRUZ, Maria Eugênia da Silva. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.

SECUNDINO, W. **Propagação vegetativa da pimenteira-do-reino: avaliação de cultivares, níveis de AIB e substratos**. 2012. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus – ES. 2012.

SERRANO, L. A. L.; MARINATO, F. A.; MAGIERO, M.; STURM, G. M. Produção de mudas de pimenteira-do-reino em substrato comercial fertilizado com adubo de liberação lenta. **Revista Ceres**, v. 59, n. 4, p. 512 – 517, 2012.

SHAHAT, Abdelaaty A. et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1366-1377, 2011.

SILVA, L. S. **Avaliação de eficiência do óleo de nim no manejo do mal-do-panamá**. 2006. 26 p. monografia (Graduação em agronomia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2006.

SILVA, C. H. C. **Caracterização e manejo da mancha branca (*Phaeoramularia manihotis* (F. Stevens & Solheim) MB Ellis) na cultura mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo - AL, 2014.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *Afr. J. Agric. Res*, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016.



SILVA JÚNIOR, J. da et al. **Extratos de Mamona no Controle da Ferrugem Asiática da Soja**. 2007. Disponível em:. Acesso em: 15 abr. 2016.

SILVA JÚNIOR, J.; SANTOS, V. A.; CARVALHO, E. A.; CARVALHO, E. R.; FRAGA, A. C.; CASTRO NETO, P.; REZENDE, P. M. **Extrato de mamona no controle da ferrugem asiática da soja**. Disponível em: <http://www.fasb.edu.br> Acesso em: 21 jun. 2016.

SILVA, J. A. et al. Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum f. sp. tracheiphilum* em sementes de caupi. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, pp. 611-616. 2009.

SILVEIRA, E. K. C. P. et al. Avaliação de extrato de mamona no crescimento e esporulação de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 39., 2006, Salvador. **Anais...** Fitopatologia Brasileira. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2006. v. 31. p. 358-358.

SLUSARENKO, A. J.; PATEL, A.; PORTZ, D. Control of plant diseases by natural products: allicin from garlic as a case study. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 121, n. 3, p. 313-322, July 2008.

Soltis PS, Soltis DE and Chase MW (1999). Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* 402: 402-404.

SORIANO, W. T. **Avaliação de métodos alternativos no controle de *Phytophthora sp.* em laranja pêra e limão cravo**. 2011. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção e Proteção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2011.

SOUSA, R. M. S.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012.

SOUZA JÚNIOR, I.T; SALES, N.L.P; MARTINS, E.R. **Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo**. Revista Biotemas, v.22, n.3, 2009.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolados de grão de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 465-470, 2007.

SOVOVA K.; SOVA P. Pharmaceutical significance of *Allium sativum* L. 4. Antifungal effects. **International Dental Journal**, v. 52, p. 433-437, 2002.

STADNIK, M. J.; MARASCHIN, M. Manejo ecológico de doenças de plantas. **Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. Florianópolis SC. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. pp. 221Y244, 2004.**

STANGARLIN, J. R. Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de doenças de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. **Palestras...** Maringá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. p. 94-95.

SWARUPA, V.; RAVISHANKAR, K. V.; REKHA, A. Characterization of tolerance to *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* infection in banana using suppression subtractive hybridization and gene expression analysis. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Michigan, v. 83, p. 1-7, jul. 2013.

TAKANO, Eunice Hitomi et al. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, 2007.

TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. **Manejo ecológico de doenças de plantas**, p. 45-62, 2004.

TOMAZONI, Elisa Z.; GIANI, Stefani G.; RIBEIRO, Rute T. S.; PAULETTI, Gabriel F.; SCHWAMBACH, Joséli. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* Ness sobre fungos fitopatogênicos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 11, n. 2, p. 1-5, nov., 2013.

TORRES, L.O; PÉREZ, M.E.T; CONTRERAS, A. A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afección esgastrointestinales: Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Universitat de Barcelona, 66 pp., 2005.

TORRES, L. D.; ORTINERO, C. V. & MONSERATE, J. J. Cropwastes as potential sources of natural medicine/cosmetic products, pesticides/insecticides, and paper products. **PCARRD-Highlights-2001**, Philippines, 2002, p. 42-44.

TRANI, P.E. **Calagem e adubação para hortaliças sob cultivo protegido. 2007.** Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2007\\_1/cp/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/cp/index.htm). Acesso em: 22/8/2017.

TREMACOLDI, C. R. Pimenta-do-reino: doenças causadas por fungos. **Embrapa Amazônia Oriental-Folderes/Folhetos/Cartilhas (INFOTECA-E)**, 2014.

TREMACOLDI, Célia Regina. **Principais doenças fúngicas da pimenteira-do-reino no estado do Pará e recomendações de controle**. Belém: EMBRAPA, 2010. (Série Documentos,367).

Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31741/1/Doc-367.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2017.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S. Doenças da pimenta. In: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 459 – 462.

VAZ, A. B. **Caracterização biológica e filogenética do agente etiológico da fusariose da pimenta-do-reino no Brasil**. UFLA, 2013. 62 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PATUTRICC, M. L.; PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleo de copaíba comercial por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 6, p. 612-615, dez. 1997.

VENTURA, J. A.; MILANEZ, D. Fusariose da pimenta-do-reino e seu controle. n.2. Cariacina: Emcapa, **Circular Técnica**, 1983.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. **Manejo da fusariose da pimenta-do-reino no Estado do Espírito Santo**. Vitória: INCAPER, 2004. p. 18.

VENTUROSOSO, L. dos R. **Extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos à soja**. 2009. 99 f. 2009. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Área de Concentração Produção Vegetal) -Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

VENTUROSOSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.1, p.18-23, 2011.

VERAS, M. S. **Resíduos orgânicos: uma alternativa sustentável na supressividade de Fusarium em quiabeiros para a agricultura familiar maranhense.** Universidade Estadual do Maranhão, São Luís. 2006., 83 p.

VERAS, M. S.; SILVA, A. C; RODRIGUES, A. A. C. Incorporação de resíduos orgânicos no controle da fusariose em quiabeiros. **Cadernos de Agroecologia**, v. 2, n. 1, 2007.

VISCONTI, A. **Fonte de matéria orgânica para inibição de fitopatógenos habitantes do solo.** 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

VIDAL, Juliana De Macedo. **Controle alternativo da antracnose em frutos de mamoeiro e qualidade pós-colheita.** 2014. UFPB, 2013. p. 34. Trabalho de Conclusão de Curso.

VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia.** 2. ed. Agronômica ceres, 1992.

VITURRO, C. I.; MOLINA, A. C.; HEIT, C. I. Volatile Components of *Eucalyptus globulus* Labill ssp. *Bicostata* from Jujuy, Argentina. **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v. 15, p. 206-208, May/June, 2003.

WONG, L. C.; AMBRÓSIO, M. M. D. Q.; SOUZA, N. L. D. Sobrevivência de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* Raça 2 submetido a técnica da solarização associada à incorporação de folhas de mandioca. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 2, p. 129-133, 2011.

ZAMBERLAN, J.; FRONCHETI, A. **Agricultura ecológica: preservação do pequeno agricultor e do meio ambiente.** Rio de Janeiro: 2002, 214 p.

ZAMBONELLI, A.; AURÉLIO, A.Z.; BIANCHI, A.; ALBASINI, A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. **Journal of Phytopathology**. Berlim. v.144, p.491-494, 1996.