

RUTH LINDA BENCHIMOL

***EFEITO DA CASCA DE CARANGUEJO E DE RESÍDUOS DE *Piper aduncum* NO  
CONTROLE DA FUSARIOSE E NO DESENVOLVIMENTO DE  
MUDAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO***

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas.

Orientador: **Dr. Cleber Novais Bastos**

BELÉM

2002

RUTH LINDA BENCHIMOL

***EFEITO DA CASCA DE CARANGUEJO E DE RESÍDUOS DE *Piper aduncum* NO  
CONTROLE DA FUSARIOSE E NO DESENVOLVIMENTO DE  
MUDAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO***

Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas no Curso de Pós-graduação da Universidade Federal do Pará e do Museu Paraense Emílio Goeldi, pela comissão formada pelos professores:

Orientador: Dr. Cleber Novais Bastos  
Laboratório de Fitopatologia, CEPLAC/SUPOR

Prof. Dr. John Clifford Sutton  
Dept. Environmental Biology, University of Guelph, ON, CA

Dr. Moacyr B. Dias Filho  
Laboratório de Ecofisiologia, Embrapa Amazônia Oriental

Dr. Dinaldo Rodrigues Trindade  
Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Amazônia Oriental

Prof<sup>a</sup> D<sup>ca</sup> Maria Marly de Lourdes S. Santos  
Dept. de Solos, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará

Belém, 12 de dezembro de 2002

“A falsa ciência gera ateus; a ciência verdadeira leva os homens a se curvarem diante da divindade”.

Candide Voltaire (1694-1778)

Às minhas filhas, Aíssa e Amanda, pelo sacrifício da presença ausente.

## AGRADECIMENTOS

À **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa**, na pessoa de seu presidente, **Dr. Alberto Duque Portugal**, e à **Embrapa Amazônia Oriental**, na pessoa de seu chefe geral, **Dr. Emanuel Adilson Souza Serrão**, pela oportunidade ímpar de realizar esse treinamento de alto nível profissional.

À **Universidade Federal do Pará, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará** e ao **Museu Paraense Emílio Goeldi**, pelos cursos realizados, os quais adicionaram conhecimentos importantes para o meu futuro profissional.

À **Japan International Cooperation Agency - JICA**, pelo projeto de pesquisa aprovado e pelo apoio logístico na realização de experimentos constantes desse trabalho.

À **University of Guelph**, ON, CA, pelo valioso treinamento recebido.

Ao meu orientador, **Dr. Cleber Novais Bastos**, pela orientação recebida e pela troca de idéias.

Ao meu conselheiro acadêmico, **Dr. Moacyr B. Dias Filho** (especial), pela revisão do texto e da análise estatística dos dados, pela troca de idéias, pelo apoio recebido no desenvolvimento desse trabalho e pela amizade.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. John Clifford Sutton** (especial), pelo valioso treinamento na University of Guelph, ON, CA, pelo inestimável apoio durante a minha permanência na cidade de Guelph, pela troca de idéias e pela amizade.

Aos examinadores **Dr. Moacyr B. Dias Filho**, **Prof. Dr. John Clifford Sutton**, **Dr. Dinaldo Rodrigues Trindade**, **Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Marly de Lourdes da S. Santos**, e ao suplente, **Dr. Ismael de Jesus Matos Viégas**, pelas correções feitas e sugestões dadas para a melhoria deste trabalho.

Ao **Dr. Jorge Alberto Gazel Yared**, pela grande ajuda prestada nos momentos iniciais da realização do curso que culminou com esse trabalho.

À **Françoise Yoko Ishida**, pela ajuda com as análises de solo e pela amizade.

Ao **Dr. Fernando Carneiro de Albuquerque**, pela inestimável e constante troca de informações sobre a cultura da pimenta-do-reino.

Aos **Laboratórios de Solos**, de **Ecofisiologia** e de **Agroindústria** da Embrapa Amazônia Oriental, na pessoa de seus então coordenadores e funcionários, pela disponibilização da infra-estrutura desses laboratórios para realização das análises constantes desse trabalho.

À técnica **Solange Branches Vilar** (especial), pelo grande auxílio nas análises de Biomassa Microbiana do Solo.

Aos operários rurais da Embrapa Amazônia Oriental **Waldir José de Souza Ferreira** (especial), **Carlos Maurício Barroso da Silva** e **Raimundo da Silva Nogueira**, pelo grande auxílio na instalação dos experimentos de casa-de-vegetação.

Aos técnicos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia oriental **José Maria de Sousa** (especial), **Nivaldo Araújo Bulhões** (especial) e **Carmem Dolores Costeira** (especial), pela viabilização da infra-estrutura necessária para a realização de metodologias constantes desse trabalho e pelo grande auxílio na instalação dos experimentos de laboratório e de casa-de-vegetação.

À **Dra. Rubenise Farias Gato**, pela viabilização da infra-estrutura da biblioteca da Embrapa Amazônia Oriental e à **Lucilda Maria Sousa de Matos**, pelo auxílio na normalização das referências bibliográficas.

Ao **Dr. Miguel Simão Neto**, então coordenador do Campo Experimental de Paragominas, PA, pelo fornecimento de material de propagação de mudas de pimenteira-do-reino.

Ao **Dr. Paulo Sérgio Bevilacqua de Albuquerque**, pelo fornecimento de mudas de pimenteira-do-reino.

Ao **Dr. Eniel David Cruz**, pelo apoio logístico incondicional e pela amizade.

Ao **Dr. Shingo Yoneyama**, perito da JICA, pela constante troca de idéias, pelo fornecimento de antibióticos e materiais indispensáveis para a execução de metodologias contidas nesse trabalho, e pela amizade.

Ao Dr. **Yukihisa Ishizuka**, coordenador da JICA, pelo fornecimento de material de propagação de mudas de pimenteira-do-reino e pela troca de idéias.

Ao **Dr. Weizhong Liu** (especial), da University of Guelph, ON, CA, pela inestimável ajuda na execução de metodologias que embasaram esse trabalho, pelo apoio logístico na cidade de Guelph e pela amizade.

A **Yaping Zhang**, técnica da University of Guelph, ON, CA, pelo apoio logístico durante a execução de metodologias que embasaram esse trabalho.

À **Aíssa Benchimol Stein**, bolsista da University of Guelph, ON, CA, pelo auxílio na instalação e avaliação de experimentos que embasaram esse trabalho.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xx
1 <b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
2 <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	6
2.1  IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA PIMENTEIRA-DO-REINO.....	6
2.2  PREJUÍZOS ECONÔMICOS E SOCIAIS PROVOCADOS PELA FUSARIOSE.....	7
2.3  A PODRIDÃO DAS RAÍZES E SECAMENTO DOS RAMOS DA PIMENTEIRA-DO-REINO E SEU CONTROLE.....	8
3 <b>EFEITO DA ADIÇÃO DE CASCA DE CARANGUEJO AO SOLO       NO CONTROLE DA FUSARIOSE E NO COMPORTAMENTO DE       MUDAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO</b> .....	13
3.1  INTRODUÇÃO.....	13
3.2  REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.3  MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.4  RESULTADOS.....	24
3.5  DISCUSSÃO.....	49
4 <b>EFEITO DA ADIÇÃO DE RESÍDUOS DE <i>Piper aduncum</i> AO SOLO       NO CONTROLE DA FUSARIOSE E NO DESENVOLVIMENTO DE       MUDAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO, EM CONDIÇÕES       SEMICONTROLADAS</b> .....	55



4.1	INTRODUÇÃO.....	55
4.2	REVISÃO DE LITERATURA.....	57
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	59
4.4	RESULTADOS.....	63
4.5	DISCUSSÃO.....	76
5	<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>77</b>
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>82</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>84</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>103</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Produção média de pimenta-do-reino no Brasil, de 1996 a maio/2002 (A) e preço médio da pimenta-do-reino, nos últimos 20 anos (B).....	7
Figura 2- Casca de caranguejo ( <i>U. cordatus</i> ) natural, e triturada para utilização no solo.....	18
Figura 3- Altura de plantas de pimenta-do-reino, aos 240 dias de cultivo, em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo.....	25
Figura 4- Altura média de plantas de pimenta-do-reino, cultivadas por 240 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, submetidas a diferentes tempos de pré-incubação.....	26
Figura 5- Efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, pré-incubada por 0, 30 ou 60 dias antes do transplântio, na altura de mudas de pimenteira-do-reino, aos 240 dias.....	27
Figura 6- Produção de massa seca em plantas de pimenta-do-reino, cultivadas por 240 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de pré-incubação.....	28
Figura 7- Incremento na produção de massa seca relativa de mudas de pimenteira-do-reino, 240 dias após a adição de casca de caranguejo ao solo.....	29
Figura 8- Alocação de biomassa em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 240 dias em solo adicionado de casca de caranguejo, independente do tempo de pré-incubação.....	30
Figura 9- Fotossíntese líquida em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por	

240 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de pré-incubação.....	31
Figura 10- Incremento na produção de massa seca total de mudas de pimenteira-do-reino, 120 dias após a adição de casca de caranguejo ao solo.....	32
Figura 11 - Produção de massa seca em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 120 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m) pré-incubada por 30 dias.....	33
Figura 12- Mudanças de pimenteira-do-reino cultivadas por 120 dias em solo de mata autoclavado (esquerda), de pimental abandonado (centro) e de mata natural (direita), adicionados de casca de caranguejo (0,5% m/m), pré-incubada no solo por 30 dias, antes do plantio.....	34
Figura 13- Alocação de biomassa em mudas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 120 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m), independente do tempo de pré-incubação.....	35
Figura 14- Fotossíntese líquida em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 120 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m), pré-incubada por 30 dias.....	36
Figura 15- Sobrevivência de mudas de pimenteira-do-reino, após 30 dias de cultivo em solo adicionado de 0,5% de casca de caranguejo e infestado com <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> (FSP), independente do tempo de pré-incubação.....	37
Figura 16- Aumento percentual na produção de massa seca total de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solos adicionados de 0,5% casca de caranguejo.....	38

Figura 17- Massa seca total de plantas de pimenteira-do-reino após 150 dias de cultivo em solos de mata, autoclavado e natural, e de pimental abandonado, adicionados ou não de casca de caranguejo, com ou sem pré-incubação.....	39
Figura 18- Alocação de biomassa em mudas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 150 dias em solo adicionado de casca de caranguejo, independente do tempo de pré-incubação.....	40
Figura 19- Fotossíntese líquida de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m), pré-incubada por 30 dias.....	41
Figura 20- Sobrevivência média de plantas de pimenteira-do-reino a fusariose, após 90 dias de cultivo em solo natural e autoclavado, adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de pré-incubação.....	42
Figura 21- Biomassa microbiana em solos autoclavado e natural, adicionados de casca de caranguejo (sem pré-incubação ou incubada por 15 ou 30 dias), 45 dias após o plantio de pimenteira-do-reino.....	43
Figura 22 - Efeito da interação entre tipo de solo, concentração de casca de caranguejo e tempo de pré-incubação, na biomassa microbiana de solo infestado com <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e cultivado por 45 dias com pimenteira-do-reino.....	44
Figura 23- Aumento percentual na produção de massa seca total de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado casca de caranguejo.....	45
Figura 24- Massa seca total de plântulas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado de 0,5 ou 1,0 % de casca de caranguejo, sem pré-incubação ou pré-incubada por 15 ou 30 dias antes do transplântio.....	46

Figura 25- Alocação de biomassa em plantas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 150 dias em solo adicionado de casca de caranguejo, independente do tempo de pré-incubação.....	47
Figura 26- Fotossíntese líquida em mudas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 150 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, com diferentes tempos de pré-incubação.....	48
Figura 27- Sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino em solo adicionado de resíduos líquidos (RL) ou sólidos (RS) da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> , durante 150 dias (os dados são média + erro padrão).....	64
Figura 28- Efeito de resíduos líquidos (RL) e sólidos (RS) na sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino, no período de 30 a 150 dias.....	65
Figura 29- Produção de massa seca de folhas em pimenteira-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> .....	66
Figura 30- Aumento percentual na produção de massa seca relativa de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado de resíduo líquido (RL) ou sólido (RS) da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> .....	66
Figura 31- Plantas de pimenteira-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos sólidos (RS) e líquidos (RL) da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> .....	67
Figura 32- Alocação de biomassa em plantas de pimenteira-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> .....	68
<b>Figura 33</b> - Fotossíntese líquida de plantas de pimenteira-do-reino, após 150 dias	

de cultivo em solo adicionado de resíduos da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> .....	69
Figura 34- Sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino em solo infestado cm <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e adicionado de folhas secas e trituradas de <i>P. aduncum</i> .....	70
Figura 35- Biomassa microbiana em solo adicionado de folhas secas e trituradas de <i>P. aduncum</i> . Os valores são médios (+ erro padrão).....	71
Figura 36- Massa seca de plantas de pimenteira-do-reino, após 90 dias de cultivo em solo infestado com <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e adicionado de folhas secas de <i>P. aduncum</i> .....	72
Figura 37- Incremento na produção de massa seca relativa de mudas de pimenteira-do-reino, em solo autoclavado e natural, adicionados de duas concentrações de FPAD.....	73
Figura 38- Alocação de biomassa de folha em plantas de pimenteira-do-reino cultivadas por 90 dias em solo adicionado de folhas secas e trituradas e <i>P. aduncum</i> , com ou sem autoclavagem e infestação por <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> .....	74
Figura 39- Alocação de biomassa em plantas de pimenteira-do-reino, após 90 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos de folhas secas e trituradas de <i>P. aduncum</i> .....	74
Figura 40- Fotossíntese líquida de plantas de pimenteira-do-reino, após 90 dias de Cultivo em solo adicionado de folhas de <i>P. aduncum</i> secas e trituradas, sem a prévia extração do óleo essencial.....	75

<b>LISTA DE TABELAS</b>	
Tabela 1- Análise de componentes químicos da casca de caranguejo do mangue ( <i>Ucides cordatus</i> ).....	103
Tabela 2- Análise de umidade e cinzas casca de caranguejo do mangue ( <i>Ucides cordatus</i> ).....	103
Tabela 3- Análise química do solo de mata, coletado na área experimental da Embrapa Amazônia Oriental, no município de Belém, Pará.....	104
Tabela 4- Análise química dos solos de mata, com e sem autoclavagem, e do solo de pimental abandonado, coletados na área experimental da Embrapa Amazônia Oriental, no município de Belém, Pará.....	105
Tabela 5- Análise de Variância Multivariada da altura de plantas de pimenteira-do-reino cultivadas em vasos contendo solo adicionado de casca de caranguejo, em diferentes concentrações e tempos de incubação, aos 240 dias.....	106
Tabela 6- Análise de Variância do efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de incubação, na produção de massa seca total de plantas de pimenteira-do-reino, cv. Guajarina, aos 240 dias.....	107
Tabela 7- Análise de Variância Multivariada para o efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de incubação, na fotossíntese líquida de plantas de pimenta-do-reino, cv. guajarina,	

aos 240 dias de cultivo.....	107
Tabela 8- Análise de Variância para o efeito da adição de 0,5% de casca de caranguejo na produção de massa seca total de plantas de pimenta-do-reino, cv. guajarina, após 120 dias de cultivo.....	108
Tabela 9- Análise de contrastes para o efeito da casca de caranguejo na produção de massa seca total em plantas de pimenteira-do-reino, independente do tipo de solo testado.....	108
Tabela 10 - Análise de contrastes para o efeito dos tipos de solo na produção de massa seca de plantas de pimenteira-do-reino.....	109
Tabela 11- Efeito da adição de casca de caranguejo no pH de solo de mata, autoclavado e natural, e de pimental abandonado.....	109
Tabela 12- Análise de contrastes para o efeito da adição de casca de caranguejo ao solo, na fotossíntese de plantas de pimenteira-do-reino, após 120 dias de cultivo.....	110
Tabela 13- Análise de Variância Multivariada de medidas repetidas, da sobrevivência de mudas de pimenteira-do-reino a <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> , após 30 dias de cultivo em solo adicionado de 0,5% de casca de caranguejo.....	111
Tabela 14- Análise de contrastes do efeito da interação entre os fatores época de avaliação x solo x casca de caranguejo x patógeno, na sobrevivência de mudas de pimenteira-do-reino, após 30 dias de cultivo em solo adicionado de	



0,5% de casca de caranguejo e infestado com <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> .....	112
Tabela 15- Análise de Variância para o efeito da casca de caranguejo na massa seca total de plantas de pimenteira-do-reino cultivadas em diferentes tipos de solo, adicionados de casca de caranguejo.....	113
Tabela 16- Análise de Variância para o efeito da interação entre tipo de solo, concentração de casca de caranguejo e tempo de incubação na fotossíntese de plantas de pimenteira-do-reino cultivadas em diferentes tipos de solo, adicionados de casca de caranguejo.....	114
Tabela 17- Análise de Variância Multivariada de medidas repetidas, da sobrevivência de mudas de pimenteira-do-reino a <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> , em solo adicionado de casca de caranguejo, aos 90 dias.....	115
<b>Tabela 18-</b> Análise de Variância para o efeito da interação entre tipo de solo, concentração de casca de caranguejo e tempo de incubação na biomassa microbiana do solo, após 45 dias de cultivo com plantas de pimenteira-do-reino.....	117
Tabela 19- Análise de Variância para o efeito da interação entre tipo de solo, concentração de casca de caranguejo e tempo de incubação, na produção de massa seca total em plantas de pimenteira-do-reino, após 90 de cultivo.....	118
Tabela 20- Análise de Variância para o efeito da interação entre tipo de solo, concentração de casca de caranguejo e tempo de incubação, na alocação de biomassa de plantas de pimenteira-do-reino, após 90 de cultivo.....	118
Tabela 21- Análise de Variância para o efeito da interação entre resíduos da	

extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> x <i>F.solani</i> f. sp. <i>piperis</i> x Época de avaliação e tempo de incubação na sobrevivência de plantas de pimenta-do-reino, durante 150 dias.....	119
Tabela 22- Análise de Variância para o efeito da adição de resíduos da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> x <i>F.solani</i> f. sp. <i>piperis</i> x Época de avaliação e tempo de incubação na produção de massa seca de folhas de pimenta-do-reino, durante 150 dias.....	119
Tabela 23- Análise de Variância para o efeito da adição de resíduos da extração do óleo essencial de <i>P. aduncum</i> na fotossíntese de plantas de pimenta-do-reino cultivadas em diferentes tipos de solo.....	120
Tabela 24- Análise de Variância Multivariada de medidas repetidas pra a sobrevivência de mudas de pimenta-do-reino a <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> , em solo adicionado de dois níveis de folhas secas e trituradas de <i>P. aduncum</i> , aos 90 dias.....	121
Tabela 25- Análise de Variância Multivariada para o efeito da adição de FPAD em solo infestado ou não com <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> , na produção de massa seca de plantas de pimenta-do-reino, aos 90 dias.....	122
Tabela 26- Correlação entre sobrevivência de planta e biomassa microbiana em solo natural ou autoclavado, adicionado ou não de FPAD.....	122
Tabela 27- Análise de Variância através do Modelo Linear Geral (GLM) para o efeito da adição de FPAD na produção de massa seca de plantas de pimenta-	

do-reino, aos 90 dias.....	123
<b>Tabela 28-</b> Análise de Variância, através do Modelo Linear Geral (GLM), para o efeito da adição de FPAD na alocação de biomassa de folha, em pimenteira-do-reino.....	123
<b>Tabela 29-</b> Análise de Variância, através do Modelo Linear Geral (GLM), para o efeito da adição de FPAD na alocação de biomassa de raiz, em pimenteira-do-reino.....	124
<b>Tabela 30-</b> Análise de variância Multivariada para o efeito da adição de FPAD em solo infestado ou não com <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> , na fotossíntese de plantas de pimenta-do-reino, aos 90 dias.....	124

## RESUMO

A fusariose, provocada por *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, é a doença mais prejudicial à cultura da pimenta-do-reino na Amazônia, acarretando grandes prejuízos aos produtores dessa especiaria e às economias regional e nacional. Dentre as estratégias de controle dessa doença, a aplicação de fungicidas tem sido tradicionalmente recomendada. Porém, a eficiência biológica e econômica do controle químico é limitada, podendo causar ainda prejuízos ao meio ambiente. A aplicação de materiais orgânicos no solo pode ser considerada como forma alternativa de controle dessa doença. Alguns materiais de origem animal, como a casca de caranguejo (*Ucides cordatus*), e vegetal, como os resíduos de *Piper aduncum*, piperácea nativa da Amazônia, vêm sendo testados no controle de doenças provocadas por fitopatógenos. A atuação desses materiais no controle de fitopatógenos se deve à presença de substâncias ativas encontradas nos mesmos, como a quitina, na casca de caranguejo (CC), a qual pode estimular microorganismos degradadores desse polímero, presente na parede celular de *F. solani* f. sp. *piperis*, e o óleo essencial, em *P. aduncum*, o qual contém dilapiol, substância comprovadamente ativa na inibição de alguns fitopatógenos *in vitro* e *in vivo*. Com base nas hipóteses de que a adição ao solo de CC e de resíduos de *P. aduncum*, antes (FPAD) e após (PAD) a extração do óleo essencial, auxiliaria na redução da incidência de fusariose nas raízes e favoreceria o desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino, foram conduzidos diversos experimentos, com o objetivo de avaliar esses materiais em diferentes concentrações e períodos de pré-incubação, em solo de mata natural (N) ou autoclavado (A) e de pimental abandonado (P), em casa-de-vegetação. Mediu-se a sobrevivência das plantas, além de algumas características

morfofisiológicas como: produção de massa seca, alocação de biomassa e fotossíntese líquida, além da biomassa microbiana do solo. A CC, quando pré-incubada no solo por 15 dias antes do transplante, na concentração de 1,0% (m/m), aumentou em 20 % a sobrevivência das mudas de pimenteira-do-reino por, no mínimo, 90 dias. A incorporação da CC ao solo, sem pré-incubação ou pré-incubada por 15 e 30 dias antes do transplante, nas concentrações de 0,5 e 1,0% (m/m), favoreceu o aumento da produção de massa seca das plantas e a alocação de biomassa das mesmas para a parte aérea, principalmente para as folhas. A taxa fotossintética líquida das mudas tendeu a aumentar ou a permanecer inalterada na presença de 0,5 e 1,0% (m/m) de CC. A concentração de 2,0% (m/m) de casca de caranguejo, no entanto, reduziu a produção de massa seca e a taxa fotossintética das mudas. A adição de PAD ao solo, mais particularmente dos resíduos sólidos (RS), na concentração de 3,0% (m/m), aumentou a sobrevivência das mudas à fusariose em 80%. O favorecimento da sobrevivência das mudas, em 83%, foi também observado na presença de FPAD, quando esse material foi pré-incubado no solo por 45 dias, antes de transplante, na concentração de 3,0%. A produção de massa seca, a alocação de biomassa e a taxa de fotossíntese líquida das mudas de pimenteira-do-reino foram favorecidas pela adição ao solo de 3,0% de RS de PAD. Conclui-se que a CC e os resíduos de PAD e FPAD têm potencial de uso no controle da fusariose da pimenteira-do-reino.

## ABSTRACT

Black pepper (*Piper nigrum*) fusariosis, caused by *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (FSP), is a limiting root disease in the Amazon region, causing huge losses to the local economy and to the producers of this spice. Amongst the alternatives for controlling this disease, the application of fungicides has been traditionally recommended. However, the biological and economic effectiveness of the chemical control is limited. Also, the use of fungicides can cause negative effects to the environment. Some materials of animal and vegetable origins, used as soil amendment, such as crab (*Ucides cordatus*) shell and the residues of *Piper aduncum*, a native Piperaceae from the Amazon region, have been tested to control plant diseases. The reason for that are some active substances found in these materials, as chitin, in crab shell (CC), which can stimulate degrading microorganisms of this polymer, present in the cell wall of FSP, and the essential oil, in *P. aduncum*, which contains dilapiol, that inhibits some plant pathogens *in vitro* and *in vivo*. On the basis of the hypothesis that soil amendment with CC or residues of *P. aduncum*, before (FPAD) and after (PAD) the extraction of the essential oil, would increase survival and favor the development of black pepper plants grown in soils infected with FSP, various experiments were conducted, under semi-controlled condition, aiming to evaluating these materials in different concentrations and pre-incubation periods, in natural (N) autoclaved (A) and abandoned black pepper crop (P) soils. Plant survival, dry mass production, biomass allocation, net photosynthesis, and the soil microbial biomass were evaluated. Pre-incubation of CC for 15 days, before transplanting the

seedlings to the soil, at 1.0% concentration (m/m), increased plant survival in 20% for, at least, 90 days. Soil amendment with CC, without pre-incubation or pre-incubating it for 15 and 30 days before transplanting, at 0.5 and 1.0% (m/m), increased the production of plant dry mass. Plants grown in amended soil tended to allocate biomass preferentially to the aerial part, mainly to the leaves. Net photosynthesis tended to increase or to remain unchanged in plants grown in the presence of 0.5 and 1.0% (m/m) of CC. The concentration of 2.0% (m/m) of CC, however, reduced plant dry mass production and photosynthetic rates. Soil amendment with PAD, mainly the solid residues (RS), at 3.0% (m/m), increased plant survival to fusariosis in 80%. Plant survival was also increased in 83% in the presence of 45 day-pre-incubated FPAD at 3.0% (m/m). Plant dry mass production, biomass allocation and net photosynthesis increased when the soil was amended with 3.0% (m/m) of PAD RS. It is concluded that CC and the residues of PAD and FPAD have potential for being used in the control of black pepper fusariosis.

## 1- INTRODUÇÃO GERAL

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma piperácea nativa da Índia (Zeven, 1976). Dentre cerca de 14 gêneros pertencentes a essa família, *Piper* e *Peperomia* são os mais importantes, com cerca de 1.000 e 500 espécies, respectivamente. *Piper nigrum* é a espécie mais importante comercialmente (Enciclopedia..., 2000).

Embora constem registros da introdução da pimenteira-do-reino no Brasil no século XVII, pelos portugueses, (Homma, 1969; 1970a), a chamada "era da pimenta" teve início com a introdução da cultivar Cingapura BRA-019 no município de Tomé-Açú, estado do Pará, por imigrantes japoneses que lá se estabeleceram, na década de 30 (Álbum..., 1955; Cooperativa..., 1957; Duarte & Albuquerque, 1999a; Homma, 1998). Na década de 50, passados 20 anos da sua introdução no país, o cultivo racional dessa especiaria foi intensificado na região amazônica, motivado pelos altos preços atingidos pela pimenta-do-reino no mercado internacional, naquela ocasião, gerando a sua expansão para outros municípios do Pará e para outros estados brasileiros (Duarte & Albuquerque, 1999). Desde então, o Brasil alcançou a condição de exportador de pimenta-do-reino, mantida até hoje.

Em decorrência do aumento significativo das áreas de cultivo e das condições ambientais na região amazônica (altas temperaturas e umidade do ar; chuvas abundantes) serem altamente favoráveis ao desenvolvimento de patógenos, a partir do final da década de 50, começaram a surgir problemas fitossanitários nessa cultura, muitos dos quais extremamente prejudiciais ao desenvolvimento da pimenteira-do-reino. Em 1957, foram reconhecidos os primeiros sintomas da podridão das raízes e



secamento dos ramos, ou fusariose, provocada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *piperis* Albuquerque. (teleomorfo *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque.) (Albuquerque, 1961).

Os prováveis focos iniciais de fusariose foram detectados no município Santa Isabel, no estado do Pará (Albuquerque, 1961; Albuquerque & Condurú, 1971), de onde se supõe que a doença tenha sido disseminada para outros locais. Posteriormente, a fusariose foi detectada nos Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Maranhão, Mato Grosso, Minas Gerais e Paraíba, além de outros países latino-americanos, como Colômbia, Peru, Venezuela e República Dominicana (Albuquerque, 1976, Homma & Miranda Filho, 1979, Duarte & Albuquerque, 1999a).

As linhas de pesquisa para o controle da fusariose da pimenteira-do-reino concentraram-se, durante muitos anos, na utilização de fungicidas e na busca por cultivares resistentes. Alguns fungicidas, como benomyl e thiabendazol, vêm sendo utilizados com sucesso no controle das doenças da cultura em propagadores (Duarte & Albuquerque, 1980) e no campo. No entanto, a utilização de fungicidas nos pimentais comerciais, como única alternativa, envolve uma série de fatores negativos, como a susceptibilidade da pimenteira-do-reino a fusariose durante todo o seu ciclo de vida, e o ambiente altamente favorável ao desenvolvimento do patógeno durante a maior parte do ano, demandando aplicações freqüentes, o que pode tornar essa prática bastante onerosa. A oscilação de preço da pimenta no mercado internacional (Fig.1), via de regra, inviabiliza a economicidade do controle químico. Ainda, a aplicação sistemática de fungicidas causa problemas ambientais, podendo comprometer a aceitação do produto no mercado internacional. A busca por cultivares resistentes (Ando *et al.* 1984; Ando *et al.* 1997), por sua vez, ainda não alcançou resultados aplicáveis em nível de campo.

Os ecossistemas de solos naturais apresentam um espectro de biodiversidade importante na proteção das plantas contra fatores bióticos de estresse, como doenças provocadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides. Nos agroecossistemas, no entanto, ocorre um declínio na diversidade microbiana, geralmente decorrente da redução da matéria orgânica e da mudança na diversidade de plantas para as monoculturas. Práticas de manejo que favoreçam as comunidades microbianas de ocorrência natural são uma abordagem alternativa na utilização do controle biológico (Vilich & Sikora, 1997).

Os métodos tradicionais de controle de doenças de raízes são extremamente agressivos ao meio ambiente. Produtos químicos aplicados ao solo, ou o manuseio inadequado das embalagens desses produtos, podem levar à contaminação do meio ambiente, particularmente da água superficial e subterrânea. Há, ainda, o efeito indesejável sobre organismos não-alvo, resíduos em alimentos, e o surgimento de populações resistentes ao princípio ativo do produto (Melo, 1998).

O controle biológico é uma alternativa viável ao uso intensivo de produtos químicos, podendo ser incorporado ao manejo integrado das doenças provocadas por patógenos de solo. Definido como “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem” (Baker & Cook, 1974; Cook & Baker, 1983), o conceito de controle biológico é bastante amplo, incluindo efeitos diretos e indiretos relacionados tanto à introdução de antagonistas como à manipulação da população existente para reduzir a incidência de doenças. A adição de substâncias orgânicas ao solo, para estimular a população microbiana, está incluída nesse conceito (Lucas, 1998)”.

A adição de substâncias orgânicas ao solo tem sido técnica frequentemente empregada no controle biológico de fitopatógenos, em diversas culturas, com avanços significativos ao longo das últimas décadas (Cook, 1991, 2000; Deacon, 1991). Essa técnica é considerada uma das mais antigas práticas agrícolas e, talvez, uma das mais antigas formas de controle biológico (Thurston, 1992). Materiais orgânicos incorporados ao solo aceleram a morte de propágulos dos patógenos, em função do estímulo à germinação dos mesmos, pela ação dos nutrientes liberados durante a mineralização desses compostos, e pelo aumento na população de microorganismos antagônicos, os quais passam a competir pelos nutrientes disponíveis ou atacar diretamente as estruturas do patógeno (Mitchell & Alexander, 1961; Papavizas & Lumsden, 1980; Pimentel, 1981). A modificação no habitat, gerada pela adição de substâncias orgânicas ao solo, possibilita a alteração na composição da microflora, podendo essas alterações microbiológicas reduzir ou destruir os propágulos de patógenos do solo (Mitchell & Alexander, 1962).

Alguns materiais orgânicos de origem animal, como a casca de caranguejo, e vegetal, como resíduos de piperáceas nativas, podem se constituir em aditivos ao solo, para o controle da podridão das raízes da pimenteira-do-reino. Embora não existam registros científicos de sucesso na utilização de substâncias orgânicas para o controle de *F. solani* f. sp. *piperis* Albuquerque, alguns exemplos podem ser citados em relação à espécie *F. solani*, no controle da podridão de raiz do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *phaseoli* (Burk.) Snyder & Hans. A redução (Maier, 1961; Nash & Snyder, 1962; Snyder et al., 1959; Weinke, 1962) ou o aumento (Maier, C. R., 1961; Snyder et al., 1959) na ocorrência de doença foi observada, em função do tipo de material orgânico adicionado ao solo.

As hipóteses que geraram esse estudo foram: a) a adição da casca de caranguejo ao solo reduz a incidência de fusariose e favorece o desenvolvimento de plantas de pimenteira-do-reino; e b) a adição de resíduos de *Piper aduncum* ao solo - antes e após a extração do óleo essencial - reduz a incidência de fusariose e favorece o desenvolvimento de plantas de pimenteira-do-reino.

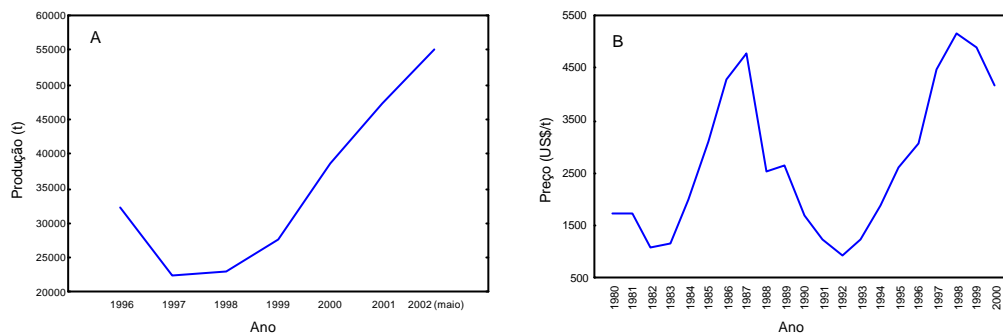
Os objetivos dos ensaios apresentados nessa tese foram: a) testar o efeito da adição de casca de caranguejo ao solo na incidência de fusariose e no desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino; e b) testar o efeito da adição de resíduos de *P. aduncum* ao solo - antes e após a extração do óleo essencial - na incidência de fusariose e no desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino, visando a adicionar futuros componentes ao sistema de produção dessa especiaria.

## **2- REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1- IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA PIMENTEIRA-DO-REINO**

O Brasil tem na pimenta-do-reino um de seus principais produtos de exportação, ocupando o quarto lugar na produção mundial dessa especiaria. No ano de 2001, a produção nacional de pimenta-do-reino (Fig. 1) foi estimada em 47.210 t, tendo alcançado 54.978 t até maio/2002 (IBGE..., 2002) O Estado do Pará foi responsável por cerca de 90% do total produzido em 2001, o que lhe confere o status de primeiro produtor brasileiro desse produto (Levantamento..., 2001). Informações divulgadas pela Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural - EMATER, referentes ao balanço da produção agrícola no estado do Pará, no ano de 2001, apontam um salto na produção de pimenta-do-reino, de 8364 t para 19.827 t, nos últimos dois anos (GOVERNO..., 2002).

Os preços da pimenta-do-reino no mercado internacional (Fig. 1) atingiram cerca de US\$ 6,000 por tonelada, em 1999, chegando o quilo do produto a custar R\$ 10,00 na região norte do Brasil. Esse aumento no preço foi ocasionado pela quebra de safra na Indonésia, um dos maiores exportadores mundiais desse produto. No entanto, em função da normalização dos estoques, os preços tenderam a baixar, para cerca de US\$ 1,940 por tonelada, em Nova York, em julho de 2002 (Pepper..., 2002).



**Figura 1-** Produção média de pimenta-do-reino no Brasil, de 1996 a maio/2002 (A) e preço médio da pimenta-do-reino, nos últimos 20 anos (B) (Fonte: <http://www.ibge.gov.br>).

## 2.2- PREJUÍZOS ECONÔMICOS E SOCIAIS PROVOCADOS PELA FUSARIOSE

Ao longo das últimas quatro décadas, estima-se que a fusariose tenha provocado a morte de mais de 15 milhões de pimenteiros, causando sérios prejuízos econômicos nas áreas produtoras dos estados do Pará, Amazonas, Acre, Amapá, Bahia, Espírito Santo, Maranhão, Minas Gerais e Paraíba, e em alguns países sul-americanos onde a pimenteira-do-reino é cultivada, como Costa Rica, Venezuela, Colômbia e Peru (CENDETECA..., 1995; Duarte & Albuquerque, 1999).

A redução drástica na vida útil dos pimentais da região amazônica, de cerca de 15 anos para cerca de seis a oito anos, foi outra consequência da fusariose, levando os produtores a usar de estratégias para driblar os prejuízos gerados pela doença, transformando a pimenta-do-reino em cultura nômade, mantendo pimentais de

diferentes idades ou diversificando suas atividades (Homma, 1970b; Homma & Miranda filho, 1979; Kitamura *et al.*, 1983; Nascimento & Homma, 1984; Duarte & Albuquerque, 1986; Hamada *et al.*, 1988; Homma, 1998; Duarte & Albuquerque, 1999).

As perdas econômicas provocadas pela fusariose no Brasil, desde a sua detecção, foram estimadas em US\$ 150 milhões, tomando como parâmetros a redução do ciclo produtivo da planta, o preço de US\$ 4,000 por tonelada de pimenta preta no mercado internacional e o rendimento de 2,5 kg por planta de pimenta seca (Duarte, 1993; Duarte & Albuquerque, 1999).

Dada a importância dessa cultura para os mercados regional, nacional e internacional, é evidente a necessidade do desenvolvimento de novos métodos de controle das principais doenças que afetam a pimenteira-do-reino, em especial a fusariose, visando a adicionar componentes ao manejo integrado dessa doença que ajudem a mantê-la em um nível de convivência com a cultura, reduzindo os prejuízos econômicos dela advindos.

### **2.3- A PODRIDÃO DAS RAÍZES E SECAMENTO DOS RAMOS DA PIMENTEIRA-DO-REINO E SEU CONTROLE**

A podridão das raízes e secamento dos ramos da pimenteira-do-reino, ambas denominadas fusariose, são causadas por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *piperis* Albuquerque (*FSP*), um hiphomiceto da família *Tuberculariaceae*, e seu teleomorfo, *Nectria haematococca* Berk & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque (*NHP*), um ascomiceto da família *Nectriaceae* (Albuquerque, 1961, 1964, 1976). *FSP* produz três tipos de esporos, denominados macroconídios, microconídios e conídios intermediários, formados em

conidióforos, além dos clamidósporos, ou esporos de resistência, os quais se originam do espessamento das células das hifas e dos macroconídios (Albuquerque & Ferraz, 1976). *NHP* produz peritécios redondos ou piriformes, de cor avermelhada, no interior dos quais se formam ascos contendo oito ascósporos bicelulados (Albuquerque, 1976).

A fusariose pode se iniciar tanto nas raízes como nos ramos da planta. No primeiro caso, os sintomas reflexos, na parte aérea, se caracterizam por uma clorose generalizada nas folhas, que caem prematuramente, o mesmo ocorrendo com os internódios, culminando com o secamento da planta. Com a evolução da doença, o sistema radicular fica totalmente necrosado, podendo essa necrose se estender para a base do caule, até cerca de 30 cm acima do nível do solo (Albuquerque, 1961, 1964, 1980). Na parte aérea, a infecção tem início pelas raízes de sustentação da planta ao tutor, observando-se lesões necróticas que se disseminam para outros ramos, provocando seu secamento, ou de toda a planta. No estágio mais avançado da doença, uma exsudação negra brilhante aparece na base do caule da planta (Albuquerque & Duarte, 1977a, 1977b; Fukutomi *et al.*, 1981). O material de plantio retirado de plantas infestadas provoca o apodrecimento de estacas, em propagadores, e de mudas, em viveiro (Duarte & Albuquerque, 1999a).

Algumas espécies de *Piper* nativas, como *P. aduncum*, *P. hostmannianum* e *P. carniconnectivum* são hospedeiras de FSP, apresentando certo grau de tolerância ao patógeno, que se manifesta em ramos isolados dessas plantas (Albuquerque *et al.*, 1997). Pesquisas posteriores demonstraram que isolados de FSP obtidos de *P. nigrum* e *P. aduncum* não infectam os tecidos radiculares de nove espécies nativas de *Piper*, confirmando a tolerância das mesmas ao ataque do patógeno (Albuquerque *et al.*, 1998).



As unidades infectivas de FSP, ou conídios, formados sobre os tecidos de raízes e ramos doentes são disseminados para as partes sadias da planta através da água, onde germinam e penetram diretamente pela epiderme (Freire & Bridge, 1985) ou por ferimentos provocados pelo nematóide *Meloidogyne incognita*, que provoca galhas nas raízes (Albuquerque, 1964). O patógeno invade os tecidos vasculares e destrói as células parenquimatosas, bloqueando os vasos e matando os tecidos. Sobre os tecidos mortos, formam-se as estruturas reprodutivas do patógeno, de onde os esporos são disseminados pelo vento na plantação, infestando ramos sadios. Ao caírem no solo, os macroconídios dão origem aos clamidósporos, que podem dar origem a novas infecções nas raízes (Duarte & Albuquerque, 1986).

Não há registros precisos sobre a época da primeira ocorrência de plantas infectadas por FSP no estado do Pará. Provavelmente, as primeiras plantas infectadas pela fusariose surgiram na época da introdução dessa cultura no município de Tomé Açú, quando se iniciou o cultivo racional dessa especiaria, em 1933 (F. C. de Albuquerque, comunicação pessoal).

O primeiro registro oficial da ocorrência de fusariose nas raízes da pimenteira-do-reino no Brasil foi no município de Santa Isabel do Pará, na rodovia Tomé-Açú-Acará, estado do Pará, em 1960 (Albuquerque, 1961, 1964), quando as plantas afetadas começaram a exibir sintomas de amarelecimento e queda gradativa das folhas e entre-nós, resultando em um grande número de plantas mortas. Posteriormente, a não erradicação total das plantas mortas pela fusariose nas extensas áreas de plantio, aliada às condições climáticas altamente favoráveis à esporulação do patógeno nas hastes mortas remanescentes, favoreceu a disseminação da doença, que passou a afetar a parte aérea da planta (Duarte & Albuquerque, 1999a). A doença passou, naquela

ocasião, a ser denominada mal de Mariquita, por ter sido detectada inicialmente na localidade de Mariquita, em Tomé-Açú (Albuquerque & Duarte, 1972).

As medidas de controle da fusariose são preventivas, no sentido de evitar a dispersão do patógeno através de material propagativo infectado. O material para novos plantios deve ser coletado em pimentais sadios ou adquirido de viveiristas cadastrados no Ministério da Agricultura, sendo, de preferência, constituído de mudas herbáceas com um a dois nós, por ser a doença detectada mais rapidamente nesse tipo de material, possibilitando sua erradicação ainda no viveiro (Duarte & Albuquerque, 1999a).

Alguns fungicidas, como Benomyl e Thiabendazol, vêm sendo utilizados com sucesso no controle de doenças da pimenteira-do-reino em propagadores (Duarte & Albuquerque, 1980), e no campo. No entanto, a utilização de fungicidas nos pimentais comerciais, como única alternativa, envolve uma série de fatores, como a susceptibilidade da pimenteira-do-reino a fusariose, durante todo o seu ciclo de vida, e o ambiente altamente favorável ao desenvolvimento do patógeno, durante a maior parte do ano, demandando aplicações freqüentes. Embora a utilização de fungicidas possa manter sob controle a fusariose da pimenteira-do-reino em propagadores, existem restrições ao uso de fungicidas como prática de rotina no campo, em função do aumento dos custos de produção e da contaminação ambiental que pode vir a ser gerada por esses produtos químicos. A oscilação de preço da pimenta no mercado internacional (Pepper..., 2002) é outro fator que contribui para a inviabilização econômica do controle químico, além de todos os possíveis danos que essa técnica pode vir a acarretar ao meio ambiente.

Não foram detectadas, até o momento, fontes de resistência à fusariose na população de pimenta-do-reino existente no Brasil. Embora testes em casa-de-vegetação

tenham demonstrado que isolados patogênicos de FSP não infectam tecidos radiculares de nove espécies de *Piper* (Albuquerque *et al.*, 1998), esses resultados ainda não estão sendo aplicados ao nível de campo. A tentativa de obtenção de cultivares resistentes, através de melhoramento genético e de irradiação gama (Ando *et al.* 1984; Ando *et al.* 1997), até então não obteve resultados aplicáveis ao nível de campo.

O controle biológico, seja através da adição de substâncias orgânicas ao solo, ou da utilização direta de microorganismos benéficos, é uma alternativa viável ao uso intensivo de produtos químicos, podendo ser incorporado ao manejo integrado das doenças provocadas por patógenos de solo. Algumas linhas de pesquisa, nesse âmbito, podem ser apontadas como promissoras, no controle da fusariose da pimenteira-do-reino.

Em laboratório, o crescimento micelial de FSP foi inibido na presença de componentes do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Bastos, 1997), abrindo perspectivas para a utilização dessa piperácea nativa no controle da fusariose. Esses resultados, embora ainda não comprovados ao nível de campo, abrem uma perspectiva ampla para o redirecionamento da pesquisa para o controle da fusariose.

### **3- EFEITO DA ADIÇÃO DE CASCA DE CARANGUEJO AO SOLO NO CONTROLE DA FUSARIOSE E NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO, EM CONDIÇÕES SEMICONTROLADAS.**

#### **3.1- INTRODUÇÃO**

No Estado do Pará, na região da Amazônia Oriental brasileira, dentre os pratos típicos mais apreciados pela população, encontram-se aqueles que têm por base a carne de caranguejo (*Ucides cordatus* L.), crustáceo encontrado em abundância nos manguezais da região.

O alto consumo de caranguejo tem gerado subprodutos da extração de carne, principalmente a carapaça, ou casquinho, que na maioria das vezes é subaproveitada ou descartada, desconsiderando o potencial econômico e o benefício social que poderiam advir da utilização desses resíduos.

Embora seja conhecido o fato de que alguns agricultores, principalmente na região de Tomé-Açú, PA, vem utilizando a casca de caranguejo como componente de compostos para a produção de hortaliças, com relatos positivos no que se refere às condições fitossanitárias e de desenvolvimento das plantas, não há registros científicos do possível efeito da utilização da casca de caranguejo no controle de doenças e no desenvolvimento de plantas na Amazônia.

Há evidências de que a adição de casca de caranguejo, ou de quitina e seus derivados, ao solo pode controlar doenças de raiz, induzir resistência a doenças e/ou promover variações na microflora do solo e no crescimento de plantas. A incidência de podridão de raiz, causada por *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* em feijão

(*Phaseolus vulgaris* L.) foi reduzida em 16% pela adição de quitina, no ato do plantio, em solo artificialmente infestado pelo patógeno (Mitchell & Alexander, 1961). Essa substância também foi eficiente na redução de murcha provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani* em nabo (*Raphanus sativus* L.) (Mitchell & Alexander, 1961a). A adição de casca de caranguejo ao solo, imediatamente antes da semeadura de soja (*Glycine max* Merr.), provocou aumento na produção e peso de sementes, semelhante ao obtido no tratamento com fertilizante NPK, utilizado convencionalmente na cultura (Ali *et al.*, 1998). O bom desenvolvimento de plântulas de repolho (*Brassica oleraceae* L.) e a supressão do tombamento provocado por *R. solani*, foi obtido com a utilização de substrato composto de casca de caranguejo e outros materiais orgânicos (Huang & Huang, 2000).

A hipótese que originou esse trabalho foi: a adição da casca de caranguejo ao solo reduz a incidência de fusariose nas raízes e favorece o desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino, atuando também como adubo.

O objetivo dessa pesquisa foi testar, em condições semicontroladas, o efeito da casca de caranguejo na redução da incidência de fusariose e na melhoria do desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino.

### 3.2- REVISÃO DE LITERATURA

A casca de caranguejo, entre a de outros crustáceos, pode conter até 19,5% de quitina, além de proteína e compostos inorgânicos, tais como carbonato de cálcio (Ehteshamul-Haque *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2000). A quitina é um polissacarídeo degradável de ocorrência comum na natureza. É o maior componente estrutural da parede celular da maioria dos fungos (Griffin, 1993), sendo também encontrada no exoesqueleto de insetos, nematóides e outros invertebrados (Gooday, 1990). Esse polissacarídeo é hidrolisado por enzimas conhecidas como quitinases (Cabib, 1987), produzidas no solo por alguns actinomicetos (Mitchell & Alexander, 1962), fungos (Mian *et al.*, 1982; Stirling *et al.*, 1979) e bactérias (Ordentlich *et al.*, 1988; Inbar & Chet, 1991). Algumas plantas também liberam quitinases como parte de seu mecanismo de defesa contra vários patógenos (Graham & Sticklen, 1994; Punja & Zang, 1993; Sahai & Manocha, 1993).

A quitina, tanto na sua forma pura, de seus derivados, ou como parte da composição de substâncias orgânicas, como a casca de caranguejo, ou ainda como componente de compostos orgânicos, tem sido testada na agricultura para diversos fins, entre os quais a promoção do crescimento de plantas (Ali *et al.*, 1998), o controle de nematóides fitoparasitas, e o controle de fitopatógenos (Tu *et al.*, 1992).

A degradação da quitina em sítios de infecção específicos, no rizoplaneo ou no filoplaneo, pode ser estimulada pela adição de substratos à base de quitina ou de microorganismos com alta atividade quitinolítica (Sundheim, 1992). A adição de quitina ao solo leva a um aumento na população de micróbios quitinolíticos e a um conseqüente decréscimo na população de fitopatógenos nesse habitat (Boller, 1986).

A aplicação de quitina em solo cultivado com pepino (*Cucumis sativus* L.) e artificialmente inoculado com o patógeno, aumentou as populações de fungos e actinomicetos e reduziu a população de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, sugerindo um efeito benéfico na recuperação de solos, após doenças provocadas por *Fusarium* spp. (Adachi *et al.*, 1987). A infecção de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) por *Rhizoctonia solani* Khun e *F. solani*, e de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), por *R. solani* e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. foi reduzida significativamente pela adição ao solo de quitina de crustáceos, sozinha ou em conjunto com *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula e *Bacillus subtilis* Cohn em. Prazm., a qual também proporcionou aumentos no peso fresco de ramos e na altura das plantas (Sultana *et al.*, 2000).

A adição de casca de caranguejo ao solo pode provocar efeitos diferenciados no desenvolvimento das plantas. Diferentes respostas na produção de biomassa têm sido observadas, em função da adição ao solo de substâncias orgânicas de várias origens. Em testes de avaliação de materiais orgânicos de origem animal e vegetal para o cultivo de tomate, em casa-de-vegetação, a adição de casca de caranguejo a um composto utilizado como meio base proporcionou Incremento superior a 80% na massa seca da parte aérea das plantas, atribuído, em parte, à mais fácil degradação dos componentes estruturais nitrogenados nos resíduos de origem animal do que naqueles de origem vegetal (Gagnon & Berrouard, 1994). A produção de biomassa aérea da gramínea forrageira *Lolium perenne* L. sofreu um aumento significativo, quando cultivada em vasos contendo solo adicionado de 1% de quitina derivada da casca de caranguejo. Esse Incremento foi explicado como uma provável consequência da mineralização do nitrogênio proveniente da quitina, melhorando, assim, a fertilidade do

solo (Brown *et al.*, 1995; Sarathchandra *et al.*, 1996). Por outro lado, em *Trifolium repens* L., observou-se uma diminuição na produção de biomassa, com o aumento na proporção de quitina adicionada ao solo, tendo sido esse efeito atribuído aos possíveis efeitos fitotóxicos da aplicação de quitina a 1%, ou de produtos resultantes da sua degradação, como  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3$  (Brown *et al.*, 1995; Sarathchandra *et al.*, 1996). Na cultura soja (*Glycine max*), a produção de massa seca em plantas cultivadas em solo adicionado de casca de caranguejo (0,1~0,5 e 1% peso/peso) foi reduzida, após seis semanas de cultivo, especialmente nos tratamentos onde foi feita a pré-incubação por 60 dias. As disponibilidades de nitrogênio e fósforo do solo foram diretamente relacionadas com as concentrações de casca de caranguejo aplicadas ao solo (Ali *et al.*, 1998).

### 3.3- MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental (01°28' S; 48°27' W), em Belém, PA, em condições de ambiente semicontrolado, com 50% de interceptação da luz solar e com temperatura e umidade relativa do ar na faixa de 25-35°C e 80-95%, respectivamente.

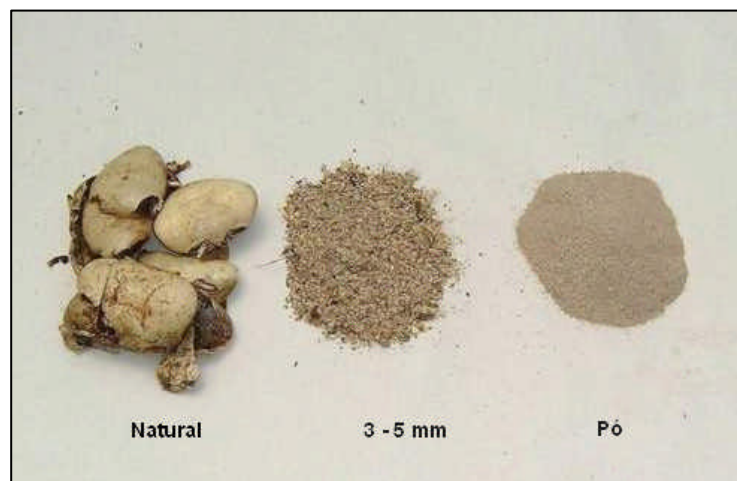
A casca de caranguejo (CC) utilizada nos experimentos foi obtida através de coleta dos resíduos da extração da carne desse crustáceo, principalmente os cascos, nos municípios de Capanema, Bragança e Belém, Estado do Pará. Para utilização no experimento, o material foi submetido à lavagem com NaClO 0,2% por cerca de uma hora, seguida de água corrente. Após secagem ao sol, por cerca de três dias, o material foi triturado (Fig. 2) até a forma de pó. A análise química do material pronto para utilização nos experimentos encontra-se nas Tabelas 1 e 2 (ANEXOS).



O programa estatístico STATISTICA para Windows versão 5.5 (Statistica..., 1995) foi utilizado para todos os cálculos estatísticos e construção de gráficos.

### 3.3.1- Efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de incubação, no crescimento de mudas de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.

*Material vegetal.* Foram utilizadas mudas da cultivar guajarina, com dois meses de idade, originadas de sementes pré-germinadas em areia lavada e autoclavada (120 °C; 1 hora) por dois dias consecutivos.



**Figura 2-** Casca de caranguejo (*U. cordatus*) natural, e triturada para utilização no solo.

**Experimento.** O experimento foi conduzido em copos descartáveis (500 ml) contendo solo do tipo Latossolo Amarelo textura média (oxisol), coletado em área de mata coberta com vegetação secundária (Tab. 3, ANEXOS) e autoclavado (120 °C, 1 hora) por dois dias consecutivos. A CC foi adicionada ao solo nas proporções de 0,5, 1 e 2% e pré-incubada por 0, 30 e 60 dias, antes do transplântio. Solo sem adição de CC foi mantido como controle. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4x3, com três repetições.

***Parâmetros avaliados e Análise estatística.*** Foram avaliados os parâmetros altura de planta, produção de massa seca, alocação de biomassa e fotossíntese líquida. As avaliações de altura de planta tiveram início aos 45 dias e se prolongaram até 240 dias. A produção de massa seca foi avaliada ao final do experimento, aos 240 dias, através da determinação da massa seca de folhas, hastes e raízes de cada planta, em estufa de circulação forçada, a 75°C, por 72 horas. Esses dados foram usados para o cálculo dos padrões de alocação de biomassa, isto é, as razões de massa de folha, haste e raiz por unidade de massa da planta inteira. Para a avaliação do comportamento fotossintético das plantas, feita aos 240 dias, utilizou-se a folha mais nova, intacta e completamente desenvolvida de cada planta. As medições foram feitas no horário de 9h às 11h, utilizando um sistema de fotossíntese portátil (Modelo LI-6200, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). Os dados de altura foram analisados através de análise de variância multivariada (MANOVA). Os dados de massa seca de planta utilizados para a análise estatística foram transformados em  $\text{Log}(x+1)$  e analisados através de análise de variância (ANOVA). Os dados de fotossíntese utilizados para análise estatística foram transformados em  $\text{Log } x$ . Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando apropriado, as médias foram comparadas através do teste de Tukey. A homogeneidade da variância foi testada através do teste de Levene.

**3.3.2- Efeito da adição de casca de caranguejo, com ou sem pré-incubação, em solos de mata e de pimental abandonado, no crescimento de mudas de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.**

*Material vegetal.* Foram utilizadas mudas da cultivar guajarina, com seis meses de idade, originadas de estacas de dois nós obtidas de plantas matrizes e enraizadas em palha de arroz carbonizada, por 60 dias.

*Experimento.* O experimento foi conduzido em caixas plásticas com capacidade para 36 kg de solo. Foi utilizado o mesmo tipo de solo descrito para o experimento 1, sem autoclavagem, denominado solo de mata natural (N), ou esterilizado em autoclave (120 °C; 1 hora; dois dias consecutivos), denominado solo autoclavado (A), e solo coletado em área de pimental abandonado por cinco anos, denominado solo de pimental (P). As análises referentes aos solos utilizados nesse experimento encontram-se na Tabela 4 (ANEXOS). Com base nos resultados obtidos no experimento anterior, foi testado o efeito da adição de CC (0,5%), pré-incubada no solo por 30 dias antes do transplântio, no desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino. Foram utilizadas 10 estacas por caixa plástica.

*Parâmetros Avaliados e Análise Estatística.* Foram avaliados os parâmetros produção de massa seca, alocação de biomassa e fotossíntese líquida, aos 120 dias, de acordo com a metodologia descrita para o experimento 1. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x2, com três repetições. Os dados de massa seca e de fotossíntese foram transformados em Log x e analisados através de ANOVA e contraste. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as

médias foram comparadas através do teste de Tukey. Para cada ANOVA, a homogeneidade da variância foi testada através do teste de Levene.

### **3.3.3- Efeito da adição de casca de caranguejo em solo de mata natural, autoclavado e de pimental abandonado, na sobrevivência à fusariose e no desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino.**

*Material vegetal.* Foram utilizadas mudas da cultivar guajarina, com quatro meses de idade, originadas de estacas de dois nós obtidas de plantas matrizes e enraizadas em palha de arroz carbonizada, por 60 dias.

*Inóculo.* A cepa de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (FSP) foi isolada de tecido doente de planta coletada no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA, e mantida na coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental. O inóculo do patógeno, utilizado na forma sólida (solo-inóculo), foi preparado repicando-se a cepa de FSP para erlenmeyers com 300 ml de capacidade, contendo 150 g de meio de cultura de solo peneirado + farelo de trigo (4:1 v/v), autoclavado por dois dias consecutivos (120 °C; 1 hora) e incubado em regime alternado de luminosidade (27±1 °C; 12 h claro/12 h escuro).

*Experimento.* O experimento foi conduzido em vasos com capacidade para 2 kg de solo. Foi utilizado o mesmo tipo de solo descrito para o experimento um, sem autoclavagem, denominado solo de mata natural (N), ou esterilizado em autoclave (120 °C; 1 hora; dois dias consecutivos), denominado solo autoclavado (A), e solo coletado em área de pimental abandonado por cinco anos, denominado solo de pimental (P). As análises referentes aos solos utilizados nesse experimento encontram-se na Tabela 4

(ANEXOS). Com base nos resultados dos dois experimentos anteriores, em relação ao benefício trazido pela casca de caranguejo às mudas de pimenteira-do-reino, a concentração de 0,5% de CC foi adicionada ao solo no ato da repicagem, ou pré-incubada por 30 dias, em vasos com capacidade para 1 kg de solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x2, com três repetições.

**Parâmetros Avaliados e Análise Estatística.** Foram avaliados os parâmetros sobrevivência de planta, produção de massa seca, alocação de biomassa e fotossíntese líquida. Os dados de sobrevivência de planta foram submetidos à ANOVA de medidas repetidas e as médias foram comparadas através de contrastes. O teste Box M foi utilizado para verificar a homogeneidade de variância dos dados. As avaliações de produção de massa seca, alocação de biomassa e comportamento fotossintético, foram procedidos de acordo com a metodologia descrita para o experimento um, e os dados de massa seca total e fotossíntese foram analisados através de ANOVA. A homogeneidade da variância dos dados foi testada através do teste de Levene.

#### **3.3.4- Efeito da adição de casca de caranguejo ao solo na incidência de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, em mudas de pimenteira-do-reino originadas de sementes, em condições semicontroladas.**

**Material vegetal.** Foram utilizadas mudas originadas de sementes, da cultivar guajarina, com oito meses de idade, obtidas conforme descrito para o experimento 1.

**Inóculo.** A cepa de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (FSP) foi isolada de tecido doente de planta coletada no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA, e mantida na coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia

Oriental. A multiplicação do inóculo foi feita através de repicagem para o meio de cultura de Batata Sacarose (batata 200 g; sacarose 20 g) e incubação, sob agitação mecânica rotativa ( $27 \pm 1$  °C; 100 rpm), por oito dias, em regime de luz alternado (12 h claro/12 h escuro), após o que a cultura foi filtrada em gaze esterilizada e a concentração da suspensão ajustada para  $10^5$  esporos  $\text{ml}^{-1}$ .

**Experimento.** O experimento foi conduzido em copos descartáveis (500 ml) contendo o mesmo tipo de solo descrito para o experimento 1, sem autoclavagem, denominado solo de mata (M), ou esterilizado em autoclave (120 °C; 1 hora; dois dias consecutivos), denominado solo autoclavado (A). As análises referentes aos solos utilizados nesse experimento encontram-se na Tabela 4 (ANEXOS). Em função dos resultados obtidos no experimento três, foi repetido o teste com a concentração de 0,5% de CC e também foi testada uma concentração maior (1,0 % de CC), pré-incubada no solo por 15 ou 30 dias. O patógeno foi inoculado no solo na forma de suspensão, na concentração de  $10^6$  esporos  $\text{ml}^{-1}$ , sendo colocados 20 ml por copo, sete dias após o transplante das mudas. As plantas foram adubadas bimensalmente, com a composição 8-8-8-1 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O-Mg), seguindo as recomendações técnicas para a cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x3, com cinco repetições.

**Parâmetros Avaliados e Análise Estatística** Foram avaliados os parâmetros sobrevivência de planta, biomassa microbiana do solo, produção de massa seca, alocação de biomassa e fotossíntese líquida. A sobrevivência de planta foi analisada através de MANOVA para medidas repetidas. A biomassa microbiana do solo foi avaliada 45 dias após o plantio das mudas, pelo método da fumigação-extração (Vance et al., 1987; Tate et al., 1988). As avaliações de fotossíntese líquida, produção de massa seca e alocação de biomassa, foram procedidas de acordo com a metodologia descrita

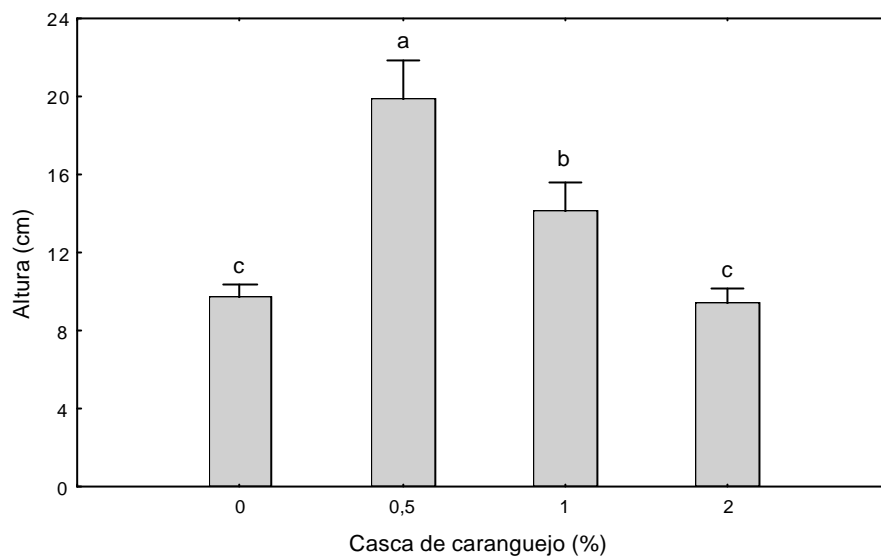
para o experimento 1. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas e, quando apropriado, as médias foram comparadas através do teste de média. Para cada ANOVA, a homogeneidade da variância foi testada através do teste de Levene.

### **3.4-RESULTADOS**

#### **3.4.1- Efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de incubação, no crescimento de mudas de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.**

A altura das mudas de pimenta-do-reino foi aumentada ( $F_{6,48}=6,62$ ;  $p<0,001$ ) pela adição de CC (CC) ao solo, até a concentração de 1,0% (m/m), independentemente do tempo de pré-incubação a que foram submetidas (Fig. 3, Tab. 5, ANEXOS).

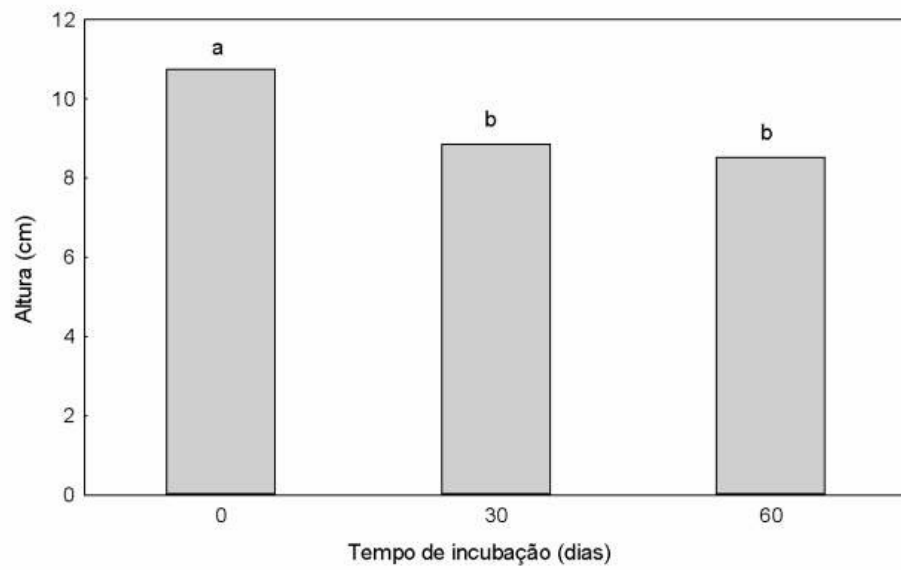




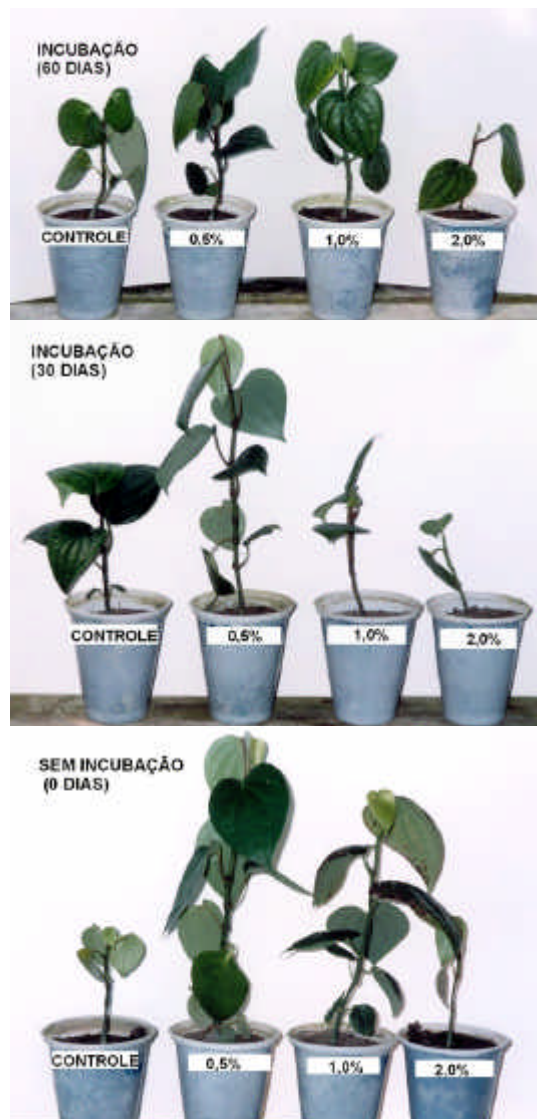
**Figura 3-** Altura de plantas de pimenta-do-reino, aos 240 dias de cultivo, em solo adicionado de diferentes concentrações de CC. Os valores são médias (+ erro padrão). Letras semelhantes sobre as colunas, indicam que as médias não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Os tempos de pré-incubação a que a CC foi submetida no solo também afetaram, de forma significativa ( $F_{2,24} = 7,78$ ;  $p = 0,025$ ), a altura das plantas (Tab. 5, ANEXOS).

Plantas cultivadas em solo onde a CC foi adicionada no ato do transplante, portanto, sem pré-incubação, apresentaram maior altura do que aquelas onde esta foi pré-incubada por 30 ou 60 dias (Figs. 4 e 5).



**Figura 4-** Altura média de plantas de pimenta-do-reino, cultivadas por 240 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de CC, submetidas a diferentes tempos de pré-incubação. Letras semelhantes sobre as colunas, indicam que as médias não diferem entre si ( $p>0,05$ ) pelo teste de Tukey.

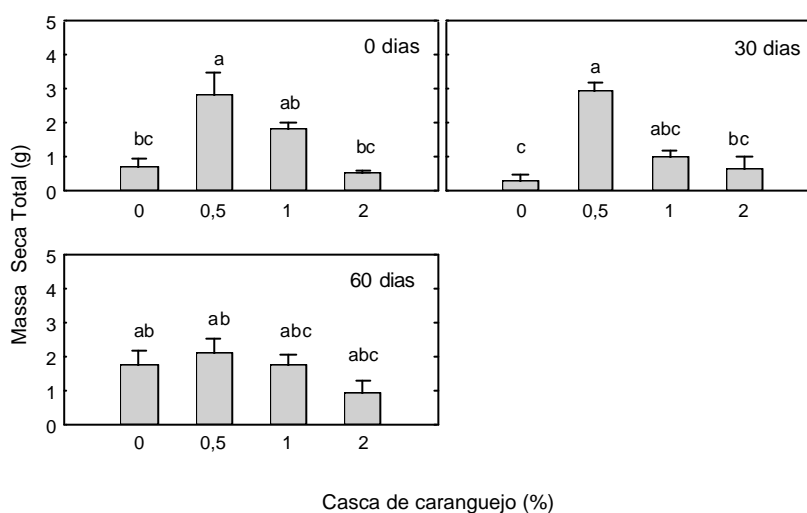


**Figura 5-** Efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, pré-incubada por 0, 30 ou 60 dias antes do transplante, na altura de mudas de pimenteira-do-reino, aos 240 dias.

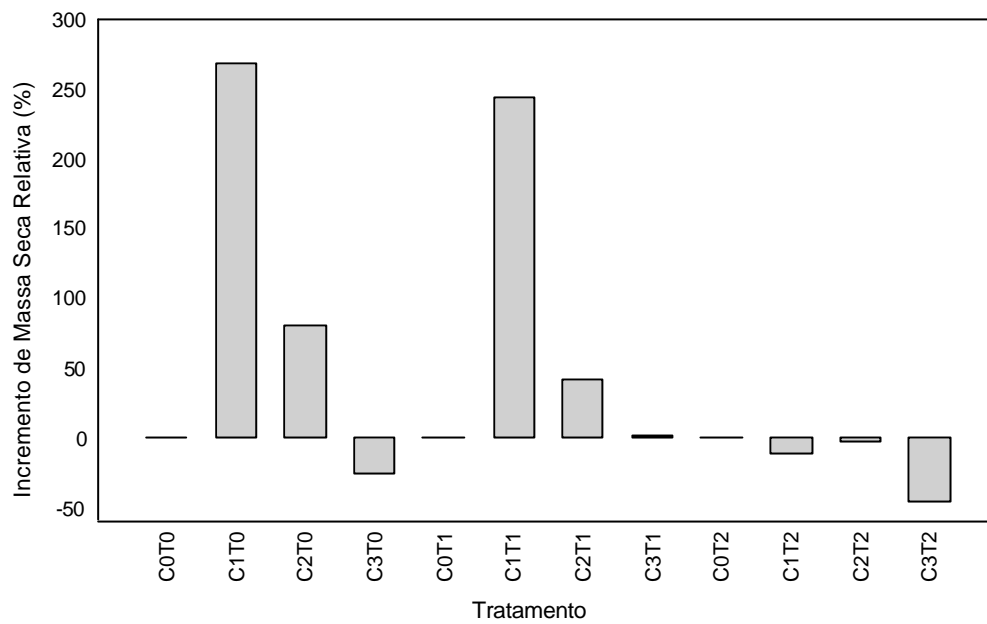
A produção de massa seca total, aos 240 dias de cultivo, apresentou efeito significativo ( $F_{6,19} = 2,94$ ;  $p = 0,033$ ) para a interação concentração  $\times$  tempo de pré-incubação (Tab. 6, ANEXOS). A concentração de 0,5%, e, de certa forma, a de 1,0% de CC, tenderam a favorecer a produção de massa seca total, particularmente no

solo sem pré-incubação, ou sob 30 dias de pré-incubação (Fig. 6). Esse efeito foi, no entanto, diluído para as plantas cultivadas no solo sob 60 dias de pré-incubação.

Por outro lado, a concentração de 2% não favoreceu a produção de massa seca das plantas (Fig. 6). Os Incrementos proporcionados pela CC na massa seca total das mudas, quando adicionada ao solo nas concentrações de 0,5 e 1,0%, foram de 268,3 e 80,6%, para os tratamentos sem pré-incubação, e de 244,6 e 42,6%, para aqueles com 30 dias de pré-incubação, respectivamente (Fig. 7).

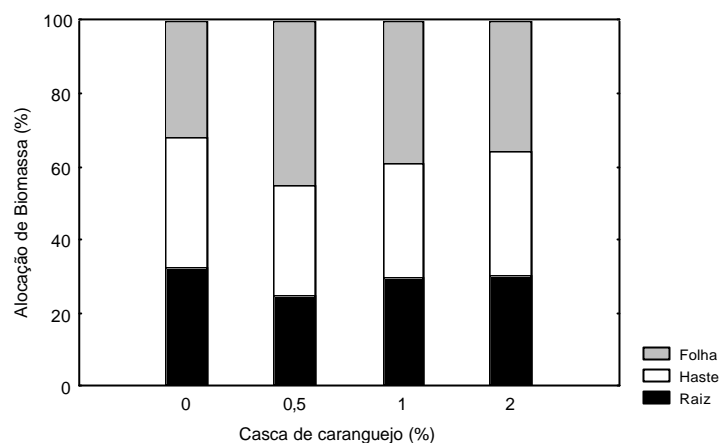


**Figura 6-** Produção de massa seca em plantas de pimenta-do-reino, cultivadas por 240 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de pré-incubação. Os valores são médias (+ erro padrão). Letras semelhantes sobre as colunas, indicam que as médias não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.



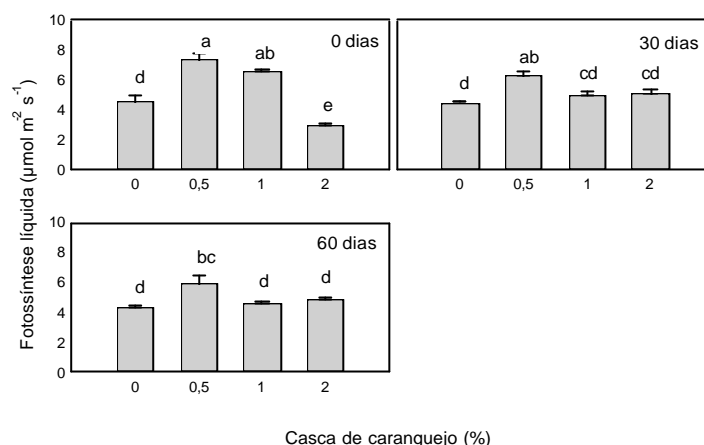
**Figura 7-** Incremento na produção de massa seca relativa de mudas de pimenteira-do-reino, 240 dias após a adição de casca de caranguejo ao solo. C0= sem casca; C1= 0,5%; C2= 1,0%; C3= 2,0%; T0= sem pré-incubação; T1= 30 dias de pré-incubação; T2= 60 dias de pré-incubação.

As plantas, quando cultivadas em solo adicionado de 0,5% de CC, independente do tempo de pré-incubação, tenderam a priorizar a alocação de biomassa para a parte aérea, principalmente para as folhas, em detrimento do sistema radicular (Fig. 8).



**Figura 8-** Alocação de biomassa em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 240 dias em solo adicionado de casca de caranguejo, independente do tempo de pré-incubação.

O comportamento fotossintético (Fig. 9) das plantas cultivadas em solo adicionado de CC foi, de modo geral, satisfatório. Foi detectado efeito significativo ( $F_{3,6} = 26,38$ ;  $p < 0,001$ ) para a interação concentração  $\times$  tempo de pré-incubação (Tab. 7, ANEXOS). Observou-se a tendência de maiores taxas fotossintéticas nas plantas cultivadas sob a dosagem de 0,5% (Fig. 9).



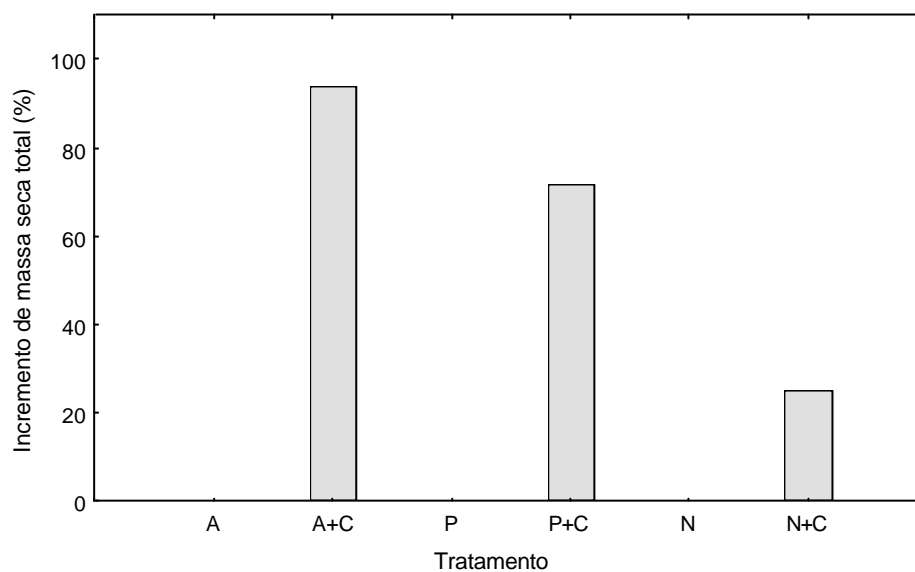
**Figura 9** Fotossíntese líquida em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 240 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de pré-incubação. Os valores são médias (+ erro padrão). Letras semelhantes sobre as colunas, indicam que as médias não diferem entre si ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

### 3.4.2- Efeito da adição de casca de caranguejo, com ou sem pré-incubação, em solos de mata e de pimental abandonado, no crescimento de mudas de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas

A adição de CC ao solo proporcionou Incrementos de 94, 72 e 25% na massa seca das mudas de pimenteira-do-reino cultivadas nos solos de mata autoclavado, de pimental abandonado e de mata natural, respectivamente (Fig. 10).

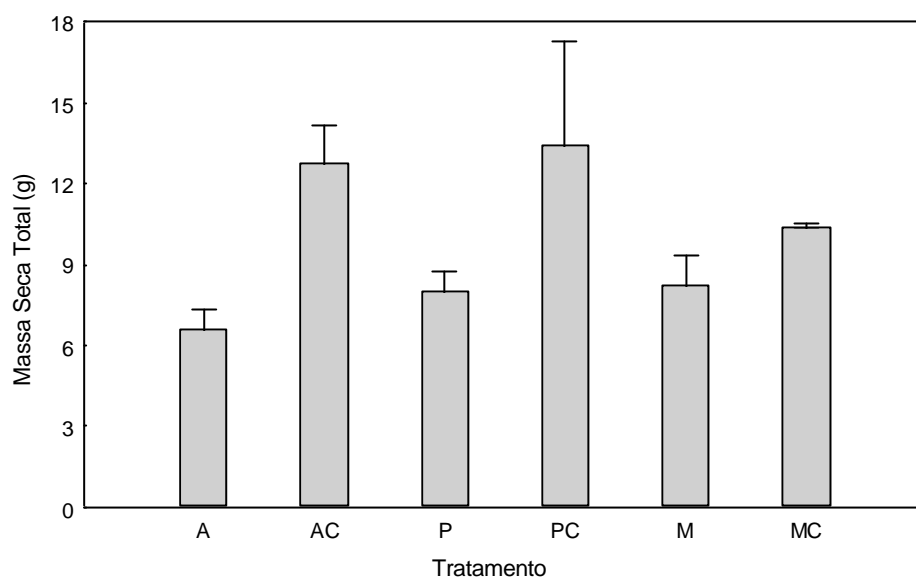
De modo geral, a análise dos dados, detectou diferença significativa ( $F_{5,7} = 4,888$ ;  $p = 0,030$ ) entre os tratamentos (Tabela 8, ANEXOS). Independente do tipo de solo utilizado, a adição de 0,5% de CC teve efeito significativo ( $F_{1,7} = 20,76$ ;  $p = 0,0026$ ; Tab. 9, ANEXOS) no aumento da produção de massa seca total das plantas. A adição da CC aumentou significativamente a produção de massa seca em solo de mata autoclavado ( $F_{1,7} = 12,97$ ;  $p = 0,009$ ) e em solo de pimental abandonado ( $F_{1,7} = 9,45$ ;  $p =$

0,018; Fig. 11). Em solo de mata natural, houve tendência de aumento de produção de massa seca total nas plantas cultivadas em solo adicionado de CC (Fig. 10), porém, esse efeito não foi estatisticamente significativo ( $F_{1,7} = 1,59$ ;  $p = 0,25$ ; (Tab. 10, ANEXOS).



**Figura 10-** Incremento na produção de massa seca total de mudas de pimenteira-do-reino, 120 dias após a adição de casca de caranguejo ao solo. A= solo autoclavado; N= solo natural; P= solo de pimental abandonado; C= 0,5% casca de caranguejo.



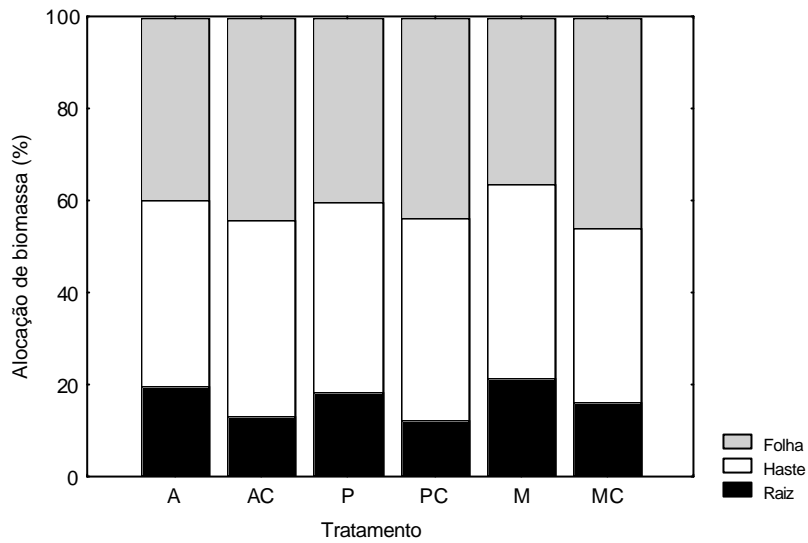


**Figura 11** - Produção de massa seca em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 120 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m) pré-incubada por 30 dias. (A= solo de mata autoclavado; AC= solo de mata autoclavado + casca de caranguejo; P= solo de pimental abandonado; PC= solo de pimental abandonado + casca de caranguejo; M= solo de mata não autoclavado; MC= solo de mata não autoclavado + casca de caranguejo).



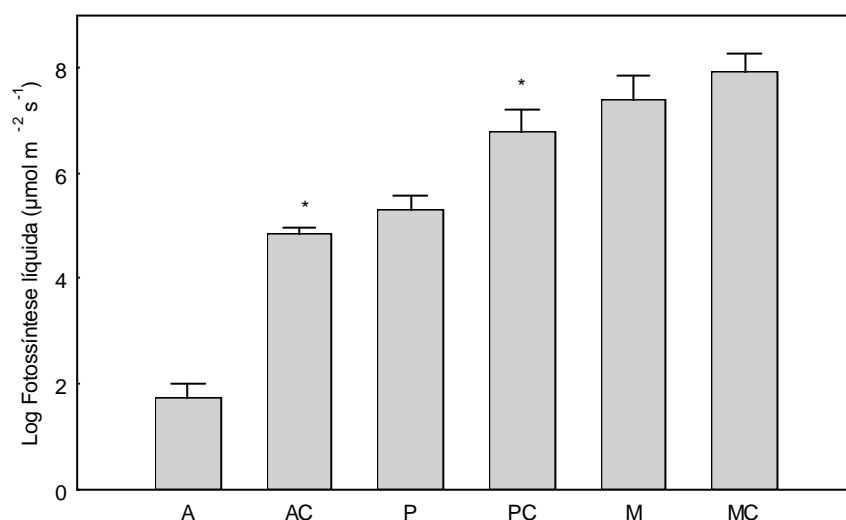
**Figura 12-** Mudanças de pimenteira-do-reino cultivadas por 120 dias em solo de mata autoclavado (esquerda), de pimental abandonado (centro) e de mata natural (direita), adicionados de casca de caranguejo (0,5% m/m), pré-incubada no solo por 30 dias, antes do plantio.

As plantas cultivadas nos solos adicionados de CC tenderam a alocar carbono preferencialmente para a parte aérea (Fig. 13).



**Figura 13-** Alocação de biomassa em mudas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 120 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m), independente do tempo de pré-incubação. (A= solo de mata autoclavado; AC= solo de mata autoclavado + casca de caranguejo; P= solo de pimental abandonado; PC= solo de pimental abandonado + casca de caranguejo; M= solo de mata não autoclavado; MC= solo de mata não autoclavado + casca de caranguejo).

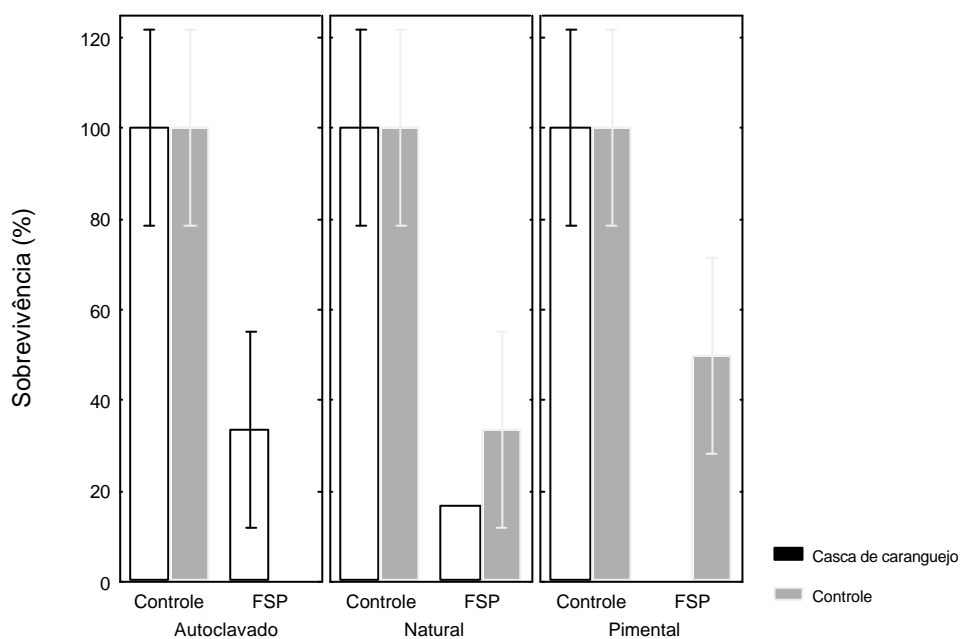
De modo geral, a fotossíntese líquida das plantas foi favorecida pela a adição de CC ao solo (Fig. 14), confirmando, de certa forma, os resultados obtidos no experimento um. A análise de contrastes para o efeito da adição de CC (Tab. 12, ANEXOS), para cada um dos solos testados, detectou significância para os solos autoclavado ( $F_{1,67} = 127,4$ ;  $p < 0,001$ ) e de pimental ( $F_{1,67} = 10,6$ ;  $p = 0,002$ ). Em solo de mata natural, apesar de não ter sido possível detectar diferença significativa em relação à testemunha, a mesma tendência foi observada.



**Figura 14-** Fotossíntese líquida em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 120 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m), pré-incubada por 30 dias. Os valores são médias (+ erro padrão). A= solo de mata autoclavado; AC= solo de mata autoclavado + casca de caranguejo; P= solo de pimental abandonado; PC= solo de pimental abandonado + casca de caranguejo; M= solo de mata não autoclavado; MC= solo de mata não autoclavado + casca de caranguejo. Os asterísticos sobre as colunas indicam diferença estatística ao nível de 1,0% de probabilidade, dentre os mesmos tipos de solo.

### 3.4.3- Efeito da adição de casca de caranguejo em solo de mata natural, autoclavado e de pimental abandonado, na sobrevivência à fusariose e no desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino

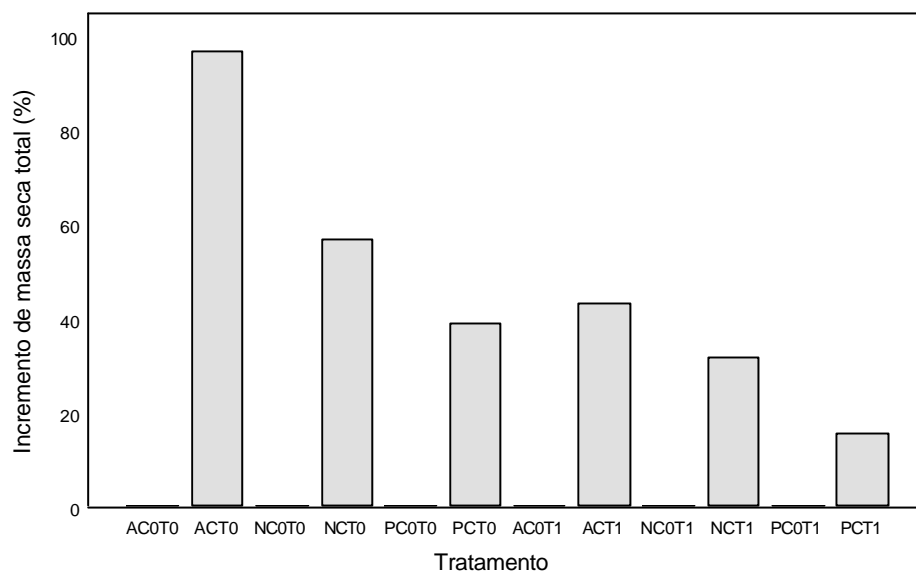
A CC, na concentração de 0,5%, não afetou significativamente a sobrevivência de plantas de pimenta-do-reino, após 30 dias de cultivo em solo autoclavado ou natural, infestado com FSP (Fig. 15). No entanto, a sobrevivência em solo de pimental abandonado foi menor na presença de CC, sugerindo aumento na severidade da doença (Tabs. 13 e 14, ANEXOS),.



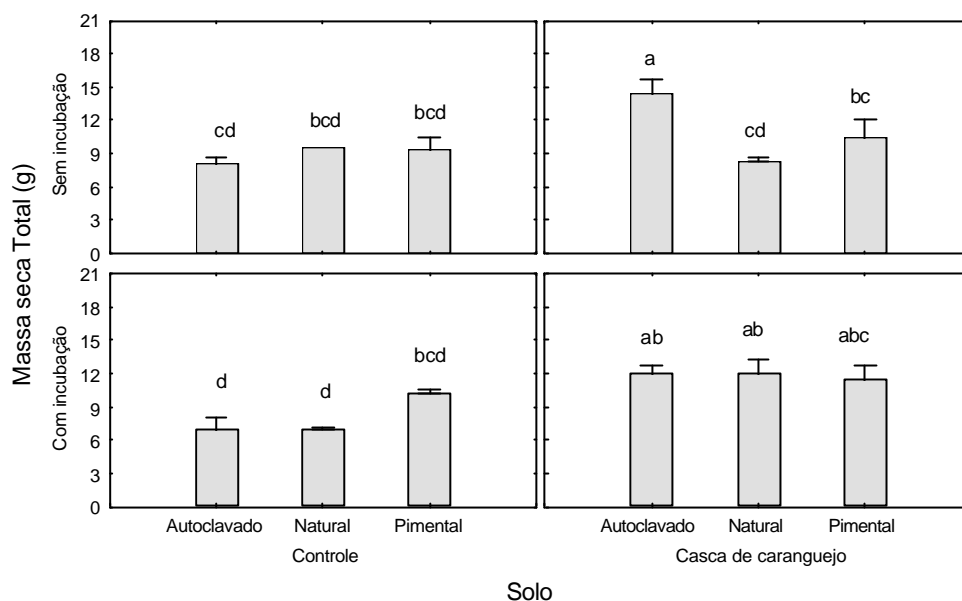
**Figura 15-** Sobrevivência de mudas de pimenteira-do-reino, após 30 dias de cultivo em solo adicionado de 0,5% de casca de caranguejo e infestado com *F. solani* f. sp. *piperis* (FSP), independente do tempo de pré-incubação. Os valores são médias (+ desvio padrão).

De modo geral, a CC favoreceu a produção de massa seca total das mudas de pimenteira-do-reino, principalmente em solo autoclavado, onde o Incremento de massa seca relativa foi de 97% (Fig. 16).

A análise dos dados de massa seca (Tab. 15) mostrou significância ( $F_{2,14} = 9,14$ ;  $p = 0,002$ ) na interação entre os fatores solo x concentração e tempo de pré-incubação (Tab. 12, ANEXOS). Houve tendência à maior produção de massa seca nas plantas cultivadas nos solos adicionados de CC, repetindo, de certa forma, as observações feitas nos experimentos um e dois, principalmente nos tratamentos onde a CC foi pré-incubada (Fig.17). Nos tratamentos sem pré-incubação, a massa seca das plantas tendeu a ser menor nos solos de mata natural e de pimental abandonado.



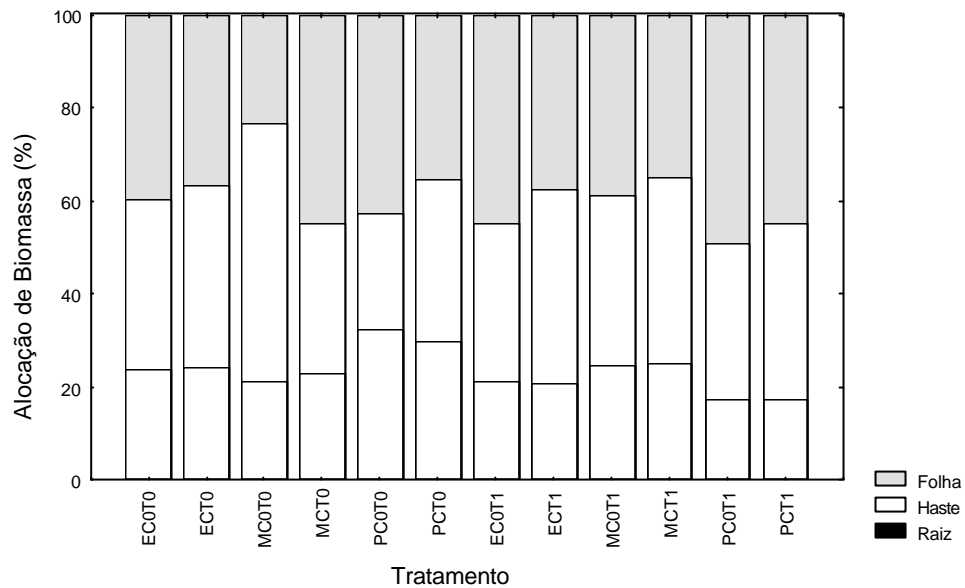
**Figura 16-** Aumento percentual na produção de massa seca total de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solos adicionados de 0,5% casca de caranguejo. A= solo de mata autoclavado; N= solo de mata natural; P= solo de pimental abandonado; C0= sem casca de caranguejo; C= com casca de caranguejo; T0= sem pré-incubação; T1= 30 dias de pré-incubação.



**Figura 17-** Massa seca total de plantas de pimenteira-do-reino após 150 dias de cultivo em solos de mata, autoclavado e natural, e de pimental abandonado, adicionados ou não de casca de caranguejo, com ou sem pré-incubação. Letras diferentes sobre as colunas indicam diferença estatística significativa.

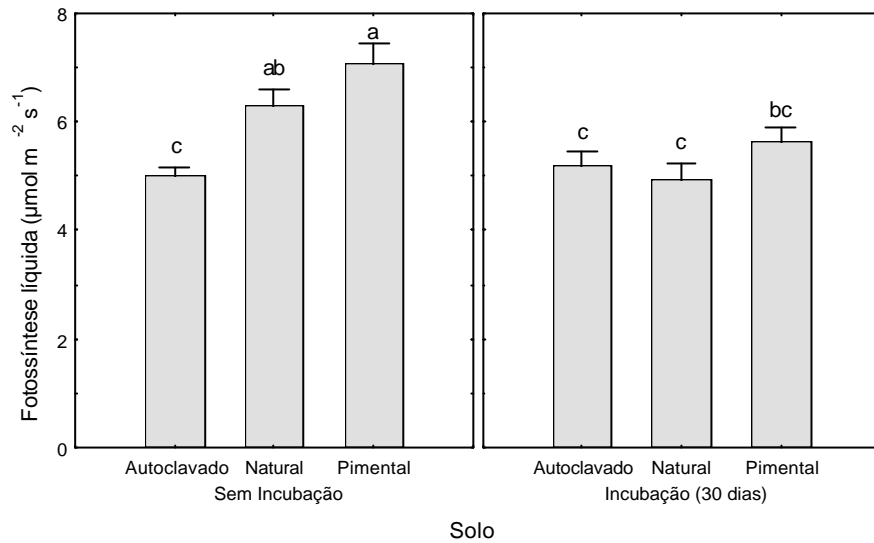
A adição de CC ao solo não interferiu no padrão de alocação de biomassa das plantas, a não ser no solo de mata natural, sem pré-incubação, onde se observou tendência de maior alocação de biomassa para a parte aérea (Fig. 18). Esses resultados concordam com os resultados obtidos em experimento anterior (Fig. 13). Embora o efeito da CC na alocação de biomassa para a parte aérea das plantas não tenha se repetido como nos ensaios anteriores (Figs. 8 e 13), não foi detectado efeito negativo desse resíduo no desenvolvimento das plantas, na concentração de 0,5% (Fig. 18).





**Figura 18-** Alocação de biomassa em mudas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 150 dias em solo adicionado de casca de caranguejo, independente do tempo de pré-incubação. A= solo de mata autoclavado; AC= solo de mata autoclavado + casca de caranguejo; P= solo de pimental abandonado; PC= solo de pimental abandonado + casca de caranguejo; M= solo de mata não autoclavado; MC= solo de mata não autoclavado + casca de caranguejo.

Na análise dos dados de fotossíntese líquida, foi possível detectar efeito significativo ( $F_{2,130} = 4,95$ ;  $p < 0,008$ ) para a interação concentração  $\times$  tempo de pré-incubação (Tab. 16, ANEXOS). A CC, quando adicionada no ato do transplantio, aumentou a taxa fotossintética líquida das plantas, principalmente nos solos de mata natural e de pimental (Fig. 19). Porém, esse efeito benéfico não foi detectado em solo autoclavado. A pré-incubação da casca, no entanto, diminuiu a taxa fotossintética líquida, principalmente para os solos de mata autoclavado e natural (Fig 19).



**Figura 19-** Fotossíntese líquida de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado de casca de caranguejo (0,5% m/m), pré-incubada por 30 dias. Os valores são médias (+ erro padrão).

#### 3.4.4- Efeito da adição de casca de caranguejo ao solo na incidência de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, em mudas de pimenteira-do-reino originadas de sementes, em condições semicontroladas.

A adição de 1,0% de CC favoreceu a sobrevivência das plantas, em ambos os solos estudados (Tab. 17;  $F_{8,286} = 1,98$ ;  $p < 0,05$ ). Porém, em solo autoclavado, esse efeito foi observado somente quando a CC foi incubada no solo por 30 dias antes do transplante, enquanto que, em solo natural, 15 dias de pré-incubação da CC foram suficientes para a manifestação da ação dessa substância no aumento da sobrevivência das plantas (Fig. 20).

A concentração de 0,5% de CC, por sua vez, não favoreceu a sobrevivência das plantas (Fig. 20). Esses resultados concordam com aqueles obtidos no experimento anterior (Fig. 15).

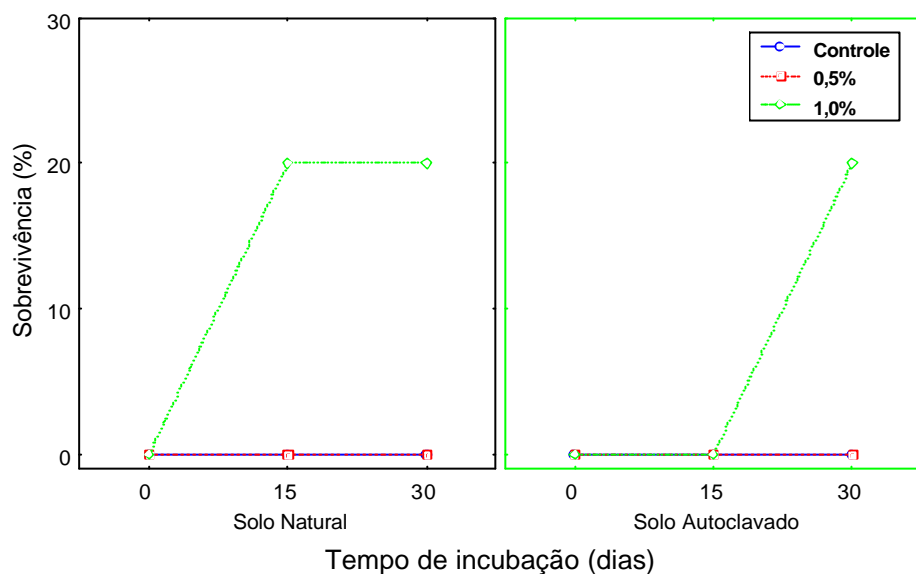
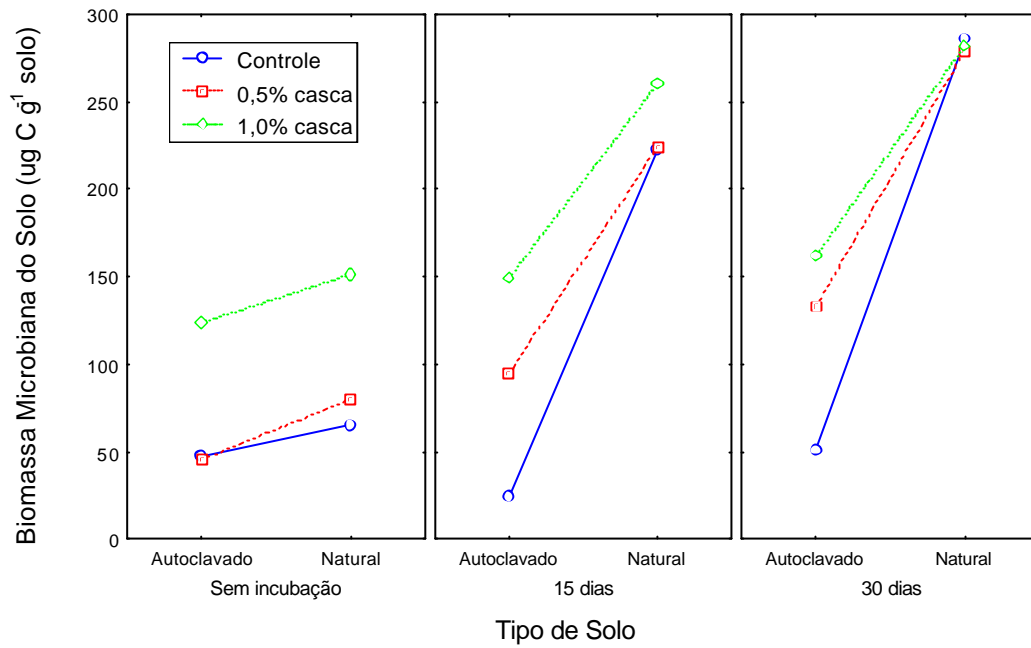
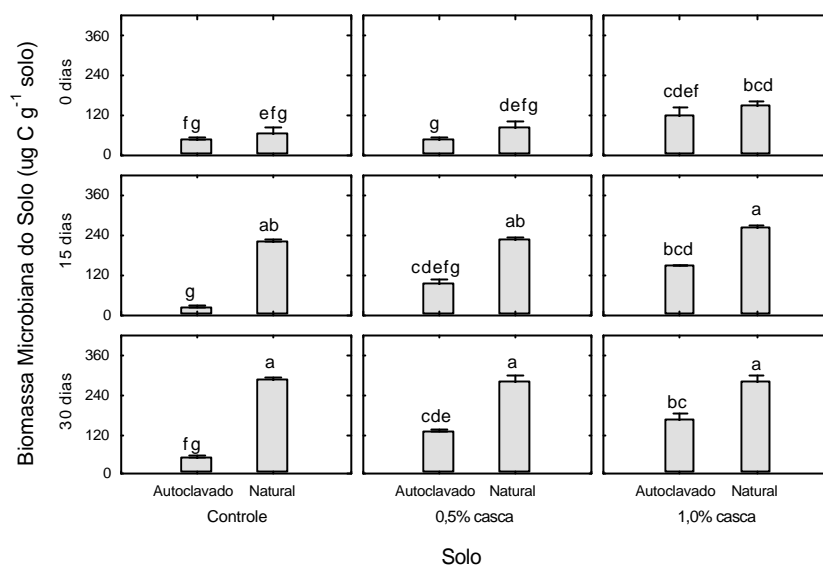


Figura 20- Sobrevivência média de plantas de pimenteira-do-reino à fusariose, após 90 dias de cultivo em solo natural e autoclavado, adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de pré-incubação.

A biomassa microbiana do solo (BMS) tendeu a ser maior em solo natural do que em solo autoclavado, notadamente quando a CC foi pré-incubada no solo (Fig. 21). Esse efeito foi principalmente observado na presença de 1,0% de CC (Fig. 22).

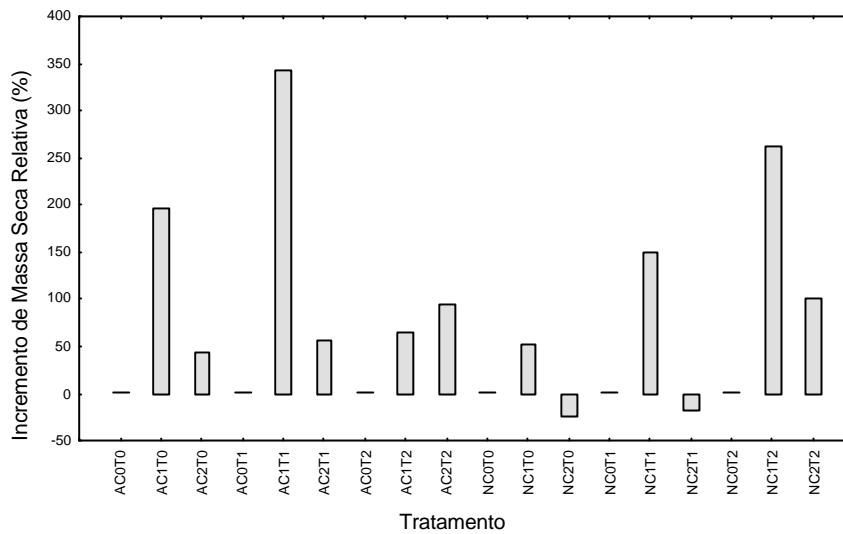


**Figura 21-** Biomassa microbiana em solos autoclavado e natural, adicionados de casca de caranguejo (sem pré-incubação ou incubada por 15 ou 30 dias), 45 dias após o plantio de pimenteira-do-reino.



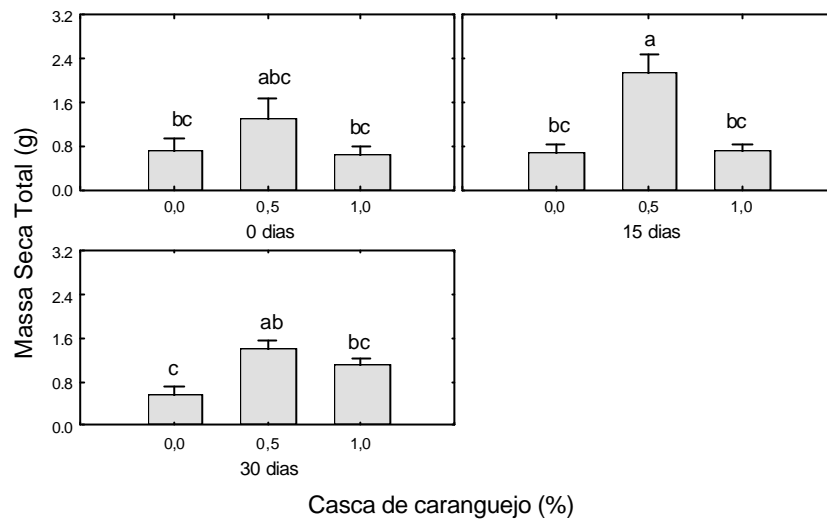
**Figura 22** - Efeito da interação entre tipo de solo, concentração de casca de caranguejo e tempo de pré-incubação, na biomassa microbiana de solo infestado com *F. solani* f. *sp. piperis* e cultivado por 45 dias com pimenteira-do-reino.

Incrementos variando entre 52 e 342% na massa seca relativa das plantas foram obtidos com a adição de 0,5% de CC, nos solos estudados (Fig. 23), confirmando os resultados obtidos nos experimentos anteriores. Por outro lado, foi observada redução na massa seca das plantas em solo natural adicionado de 1,0% de CC, quando a mesma foi pré-incubada por 15 dias ou adicionada ao solo no ato do transplântio, sem pré-incubação (Fig. 23). Essa redução não foi significativa em relação ao tratamento testemunha (Fig. 24).



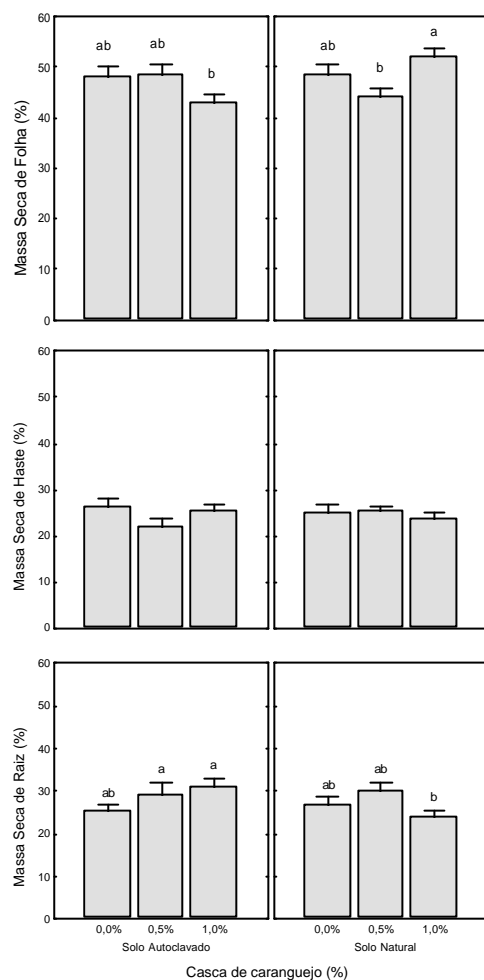
**Figura 23-** Aumento percentual na produção de massa seca total de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado casca de caranguejo. A= solo de mata autoclavado; N= solo de mata natural; C0= sem casca; C1= 0,5%; C2=1,0%; T0= sem pré-incubação; T1= 15 dias de pré-incubação; T2=30 dias de pré-incubação.

Na Figura 24, estão representados os efeitos da interação significativa ( $F_{4,34} = 5,43$ ;  $p = 0,002$ ) entre a adição de CC e o tempo de pré-incubação no solo, na produção de massa seca das plantas, aos 150 dias (Tab. 19). Melhor resposta foi obtida quando a CC foi adicionada na concentração de 0,5%, principalmente quando esta foi pré-incubada no solo por 15 dias. Apesar de não ter sido possível detectar diferença significativa entre tratamentos quando a CC foi adicionada no ato do transplante, sem pré-incubação, ou após 30 dias de pré-incubação, a mesma tendência foi observada



**Figura 24-** Massa seca total de plântulas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado de 0,5 ou 1,0 % de casca de caranguejo, sem pré-incubação ou pré-incubada por 15 ou 30 dias antes do transplântio.

O padrão de alocação de biomassa das plantas em solo adicionado de CC seguiu as mesmas tendências dos resultados obtidos nos experimentos anteriores, apresentados nessa dissertação. Apesar de não ter sido detectada diferença significativa entre tratamentos, considerando-se folhas, haste e raiz isoladamente (Tab. 20), as plantas cultivadas em solo adicionado de CC tenderam a alocar carbono preferencialmente para as folhas (Fig. 25).

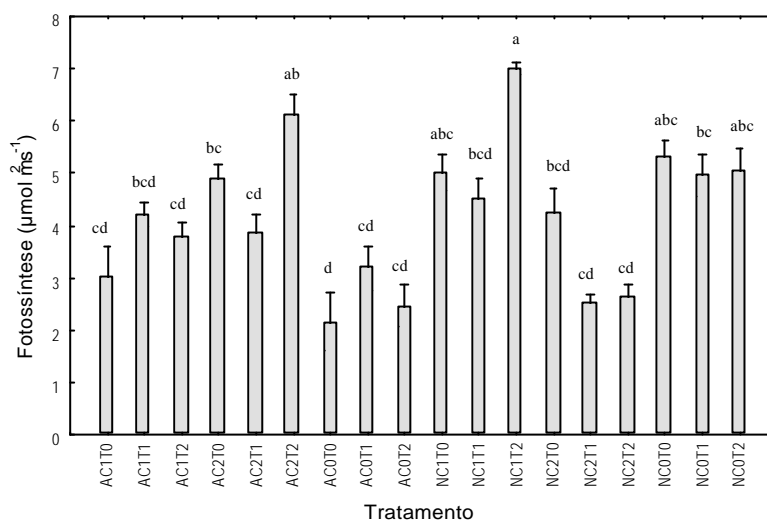


**Figura 25-** Alocação de biomassa em plantas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 150 dias em solo adicionado de casca de caranguejo, independente do tempo de pré-incubação. Os valores são médias (+ erro padrão). Letras diferentes sobre as colunas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre tratamentos, para cada variável (Teste de Tukey). Não foi detectada diferença significativa entre tratamentos para a variável haste.

Em geral, a adição de CC aumentou a taxa fotossintética líquida das plantas (Fig. 26). No entanto, observou-se tendência de menores taxas fotossintéticas nas plantas cultivadas em solo natural e onde a CC foi incubada na concentração de



1,0%, não tendo sido detectada diferença significativa entre esses valores e os do tratamento testemunha (Fig. 26).



**Figura 26-** Fotossíntese líquida em mudas de pimenteira-do-reino, cultivadas por 150 dias em solo adicionado de diferentes concentrações de casca de caranguejo, e tempos de pré-incubação. Os valores são médias (+ erro padrão). A= solo de mata autoclavado; N= solo de mata natural; C0= sem casca; C1= 0,5%; C2= 1,0%; T0= sem pré-incubação; T1= 15 dias de pré-incubação; T2= 30 dias de pré-incubação. Letras diferentes sobre as colunas indicam diferença significativa entre os tratamentos.

### 3.5- DISCUSSÃO

#### 3.5.1- Efeito da adição ao solo de diferentes concentrações de casca de caranguejo, em diferentes tempos de incubação, no crescimento de mudas de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.

É possível especular que o aumento na produção de biomassa das plantas cultivadas em solo adicionado de CC pode ter sido causado pelo provável aumento na disponibilidade de nitrogênio no solo, proveniente da CC, a qual contém em torno de 1,0% desse elemento em sua composição (Tabs. 1 e 2, ANEXOS). De fato, o acúmulo de biomassa da pimenteira-do-reino parece ser bastante reduzido pela deficiência de nitrogênio (Veloso et al., 1998).

Diferentes respostas na produção de biomassa têm sido observadas, em função da adição ao solo de substâncias orgânicas de várias origens. A adição de CC ao solo proporcionou incremento superior a 80% na massa seca da parte aérea de plantas de tomate (Gagnon & Berrouard, 1994).. Esse efeito foi relacionado, em parte, à fácil degradação dos componentes estruturais nitrogenados encontrados na CC.

A produção de biomassa aérea da gramínea forrageira *Lolium perenne* sofreu aumento significativo, quando cultivada solo adicionado de 1,0% de quitina, derivada da CC. Esse incremento foi explicado como uma provável consequência do aumento da fertilidade do solo, devido à mineralização do nitrogênio proveniente da quitina (Brown et al., 1995; Saratchandra et al., 1996).

A ausência de efeito no aumento de produção de biomassa das mudas de pimenteira-do-reino, quando cultivadas em solo adicionado de 2% de CC,

provavelmente resultou de um possível efeito fitotóxico da quitina ou dos produtos resultantes de sua degradação no solo. Resultado semelhante foi observado em *Trifolium repens*, quando a proporção de quitina no solo foi aumentada de 0,5 para 1,0% (Brown *et al.*, 1995; Saratchandra *et al.*, 1996). Segundo aqueles autores, a queda de produção, em função do aumento na proporção de quitina teria sido, possivelmente, causada por efeitos fitotóxicos da própria quitina ou por produtos oriundos da sua degradação, como  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{NO}_3^-$ .

A tendência das plantas em priorizar a alocação de biomassa para a parte aérea, na presença de 0,5% de CC, sugere aumento da disponibilidade de nutrientes do solo, principalmente nitrogênio. Plantas com alto suprimento de N geralmente aumentam a alocação relativa de biomassa para a parte aérea, principalmente para as folhas, em função da menor necessidade de produção de raízes para a absorção de nutrientes (Fichtner & Schulze, 1992).

### **3.5.2- Efeito da adição de casca de caranguejo, com ou sem pré-incubação, em solos de mata e de pimental abandonado, no crescimento de mudas de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.**

Os resultados obtidos no experimento dois confirmam aqueles observados no experimento um, no que se refere à produção de massa seca total, em solo autoclavado. Embora não tenha sido possível fazer uma análise convencional de solo, a produção de massa seca total nos três solos estudados (Fig.12) sugere que a adição da CC e, conseqüentemente, dos nutrientes liberados pela mesma, teve efeito sinérgico no desenvolvimento das plantas, nos solos autoclavado e de pimental abandonado. Isso,

provavelmente, deveu-se à maior disponibilidade de nutrientes nesses solos, em função do aumento na mineralização da matéria orgânica e no pH do solo (Tab. 11, ANEXOS), que, teoricamente, teriam sido causados pelo processo de autoclavagem (solo autoclavado), e pelo efeito residual de adubações passadas (solo de pimental abandonado). No solo de mata natural, sem autoclavagem, embora tenha sido observada tendência de aumento na produção de massa seca, em resposta à adição da CC (Fig. 12), a relativamente baixa disponibilidade de nutrientes, normalmente encontrada nesse tipo de solo (Tab. 4), provavelmente, não forneceu um nível básico de fertilidade que proporcionasse maior eficiência de aproveitamento pelas plantas, dos nutrientes liberados pela CC.

O aumento na alocação de biomassa para parte aérea é um comportamento comum em plantas cultivadas em solos ricos em nutrientes, principalmente nitrogênio (Fichtner & Schulze, 1992).

### **3.5.3- Efeito da adição de casca de caranguejo em solo de mata natural, autoclavado e de pimental abandonado, na sobrevivência à fusariose e no desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino**

A CC, na concentração de 0,5%, contribuiu para o aumento da severidade da fusariose, contrariando a hipótese de os componentes dessa substância auxiliariam no controle da doença. Segundo Linderman (1989), as substâncias orgânicas podem aumentar a intensidade com que doenças originadas no solo afetam as plantas. Isso se deve ao fato de que alguns patógenos podem vir a utilizar essas

substâncias como fonte de energia, aumentando, dessa forma, o potencial de inóculo. Resultados semelhantes (Maurer & Baker, 1964; Mitchell, 1963) demonstraram que a adição de quitina ou lignina ao solo, isoladamente, não reduz de forma significativa os sintomas provocados por *F. solani* f. sp. *phaseoli* em feijão, e, em certos casos, contribui até para aumentar a severidade da doença. O fato da severidade da fusariose ter aumentado em solo de pimental abandonado poderia ser tentativamente explicado pela provável presença, no solo, de estruturas de resistência do patógeno, ou clamidósporos, responsáveis pela sobrevivência de *F. solani* por longos períodos, na ausência de substrato adequado (Burkholder, 1919; Nash *et al.*, 1961; Burke, 1965).

#### **3.5.4- Efeito da adição de casca de caranguejo ao solo na incidência de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, em mudas de pimenteira-do-reino originadas de sementes, em condições semicontroladas**

A adição de 1,0% de CC favoreceu a sobrevivência das plantas, em ambos os solos estudados (Tab. 17;  $F_{8,286} = 1,98$ ;  $p < 0,05$ ). Porém, em solo autoclavado, esse efeito foi observado somente quando a CC foi incubada no solo por 30 dias antes do transplante, enquanto que, em solo natural, 15 dias de pré-incubação da CC foram suficientes para a manifestação da ação dessa substância no aumento da sobrevivência das plantas

Ao contrário dos resultados obtidos no experimento anterior, a CC a 1,0% atuou na redução da mortalidade das mudas de pimenteira-do-reino, quando pré-incubada por 15 dias em solo natural, e por 30 dias em solo autoclavado. Uma possível explicação

para a constatação de que um menor período de pré-incubação de 1,0% de CC em solo natural foi suficiente para o favorecimento da sobrevivência das plantas, em comparação com o solo autoclavado, pode ser o fato de que em solo natural, microorganismos degradadores de quitina, os quais possivelmente atuariam contra FSP, poderiam estar presentes no solo, em pequena quantidade, no ato da adição da CC. Assim, um menor tempo de pré-incubação dessa substância seria suficiente para estimular a multiplicação desses microorganismos. O fato de a adição de 0,5% de CC ao solo não ter favorecido a sobrevivência das plantas permite especular que a concentração de 1,0% CC foi a quantidade mínima necessária para que componentes presentes na mesma, como a quitina, ou componentes tóxicos gerados pela sua mineralização (Alexander, 1977), atuassem contra FSP no solo, aumentando, assim, a sobrevivência das plantas (Fig.20). De acordo com Zakaria *et al.* (1980), a redução na população de *Fusarium solani* e *F. oxysporum* no solo, causada pela degradação de materiais orgânicos no solo, é obtida através da atuação direta, sobre os clamidósporos recém-formados, da amônia e de outros componentes tóxicos voláteis, produzidos durante o processo de degradação.

Embora não tenham sido coletados dados que evidenciem a atuação de microorganismos degradadores de quitina no controle de FSP, é possível especular que o aumento na sobrevivência das plantas possa ter sido provocado pela presença desses microorganismos no solo, os quais teriam atuado contra FSP, considerando que esse patógeno contém quitina como um dos componentes da parede celular (Griffin, 1993). Mian *et al.* (1982) detectaram o desenvolvimento de microflora quitinolítica em resposta à adição de 1,0% de quitina de CC ao solo, pré-incubada por três semanas, em estudos sobre o controle do nematóide fitopatogênico *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, em *Cucurbita pepo* L.. Resultados semelhantes foram obtidos por Godoy *et al.* (1983),

quando a quitina foi pré-incubada no solo por 10 semanas. Ainda, o possível aumento na população de microorganismos antagônicos na presença da CC (Fig. 20) aumentaria a competição pelos nutrientes disponíveis, favorecendo, também, o ataque direto às estruturas do patógeno por esses microorganismos (Mitchell & Alexander, 1961; Papavizas & Lumsden, 1980; Pimentel, 1981).

O fato de a BMS tender a ser maior em solo natural, em resposta à pré-incubação de 1,0% de CC é esperado, uma vez que os microorganismos do solo autoclavado haviam sido inicialmente eliminados pelo processo de autoclavagem. Esse resultado pode indicar a atuação desses microorganismos no controle de FSP, uma vez que a concentração de 1,0% favoreceu a sobrevivência da plantas (Fig. 20). Brown *et al.* (1995) observaram aumento na população total de fungos e bactérias em solo adicionado de quitina (0,5 e 1,0%), pré-incubada por três, seis e nove semanas, antes do plantio com *Trifolium repens* e *Lolium perenne*, e atribuíram esse efeito, possivelmente, ao aumento do suprimento de C e N, advindo da adição dessa substância no solo. Saratchandra *et al* (1996) obtiveram resultados semelhantes adicionando 1,0% de quitina de CC, em dois tipos de solos, cultivados com as mesmas gramíneas. Hallman *et al.* (1998) também detectaram aumento significativo no número de fungos e bactérias em solo adicionado de 1,0% de quitina de CC.

#### **4- EFEITO DA ADIÇÃO DE RESÍDUOS DE *Piper aduncum* AO SOLO NO CONTROLE DA FUSARIOSE E NO DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO, EM CONDIÇÕES SEMICONTROLADAS.**

##### **4.1- INTRODUÇÃO**

As plantas tropicais são um reservatório de metabólitos secundários e uma fonte considerável de componentes químicos com diferentes propriedades biológicas (Sbragia, 1975). A literatura relata a existência de inúmeras plantas, ou produtos delas originados, com propriedades para o controle de pragas e doenças (Grange & Ahmed, 1988; Grayer & Harborne, 1994; Lumsden *et al.*, 1982; Pandey & Dubey, 1994). Apesar de a grande maioria das informações disponíveis na literatura tratar do controle de insetos, algumas publicações relevantes ressaltam o efeito de resíduos e extratos de plantas e seus óleos essenciais no controle de fitopatógenos de solo (Bastos, 1997; Bowers & Locke, 2000; Chalfoun & Carvalho, 1987; Donovan *et al.*, 1993; Magalhães *et al.*, 1996; Pandey & Dubey, 1994).

As espécies do gênero *Piper*, família Piperaceae, são reconhecidas na América Latina e no oeste da Índia por produzirem diversos componentes fisiologicamente ativos, de larga utilização na medicina popular (Burke & Nair, 1986; Tyagi *et al.*, 1993). *Piper aduncum* L., nativa dos trópicos (Smith, 1981). No Estado do Pará, é comumente encontrada na vegetação secundária, sendo considerada uma espécie invasora em áreas de exploração de madeira (Albuquerque *et al.*, 1997; Maia *et al.*, 1998). Essa espécie possui componentes que atuam como repelentes de insetos (Escobar,



1972), além de apresentarem ação inibitória contra moluscos e patógenos de mamíferos (Lemos et al., 2000; Okunade *et al.*, 1997; Orjala *et al.*, 1993) e de plantas (Bastos, 1997; Nair & Burke, 1990). A ação inibitória *in vitro* do óleo essencial de *P. aduncum* sobre *F. solani* f. sp. *piperis*, entre outros fitopatógenos, foi demonstrada por Bastos (1997), abrindo perspectivas para a utilização dessa piperácea no controle da fusariose da pimenteira-do-reino. Apesar de *P. aduncum* ser hospedeira de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* (teleomorfo de *F. solani* f. sp. *piperis*) nos ramos (Albuquerque *et al.*, 1997), a mesma apresenta resistência ao ataque de *F. solani* f. sp. *piperis* nas raízes (Albuquerque *et al.*, 1998).

Os estudos que vêm sendo desenvolvidos atualmente na região amazônica, objetivando o estabelecimento de tecnologias para a produção racional do óleo de *P. aduncum* (Ministério..., 2002), geram subprodutos da extração do óleo essencial dessa piperácea, os quais contêm resíduos de componentes ativos que podem ser aproveitados na agricultura, para o controle de fitopatógenos. Ainda, em função do largo espectro antimicótico de *P. aduncum*, existe a possibilidade concreta de que os resíduos foliares dessa piperácea, sem a extração do óleo essencial, também possam apresentar potencial de utilização no manejo da fusariose da pimenteira-do-reino. Os resíduos de *P. aduncum* poderiam, também, proporcionar ao solo e, conseqüentemente, à pimenteira-do-reino, os benefícios da adubação orgânica propriamente dita.

Com base na hipótese de que os componentes químicos presentes em *P. aduncum* atuam na redução da incidência de fusariose e no desenvolvimento de plantas de pimenteira-do-reino, quando adicionados ao solo na forma de resíduos, o objetivo desse trabalho foi testar o efeito desses resíduos, antes e após a extração do óleo essencial, na

sobrevivência e no desenvolvimento de plantas jovens de pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.

## 4.2- REVISÃO DE LITERATURA

A grande maioria dos relatos científicos sobre a utilização de resíduos de plantas para o controle de *F. solani* referem-se à *F. solani* (Mart.) Appel & Wr. f. sp. *phaseoli* (Burk.) Snyd. & Hans., agente causal da fusariose em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Efeitos como a redução (Maier, 1961; Nash & Snyder, 1962; Snyder *et al.*, 1959; Weinke, 1962) ou o aumento (Maier, 1961; Snyder *et al.*, 1959) na ocorrência da doença foram relatados, em função do tipo de material orgânico adicionado ao solo.

Snyder *et al.* (1959) controlaram *F. solani* f. sp. *phaseoli*, em casa de vegetação, utilizando resíduos ricos em carbono e pobres em nitrogênio (alta relação C/N), e detectaram o aumento da fusariose quando materiais ricos em N foram adicionados

Huber *et al.* (1965) demonstraram que resíduos de plantas que aumentam a taxa de nitrificação no solo reduzem a severidade da infecção provocada por *Fusarium* e *Rhizoctonia*, enquanto que aqueles que inibem a nitrificação aumentam a infecção provocada por esses patógenos. Esses autores concluíram que a forma de nitrogênio disponível no solo, independente da relação C/N do material adicionado ao solo, é o fator determinante que modifica a severidade das doenças provocadas por patógenos de solo.

Poucos são os relatos na literatura sobre o controle de FSP através da adição de resíduos de plantas ao solo. Sidappa & Anilkumar (1985) mostraram que a

adição de resíduos de plantas como *Cicer arietinum* L. e *Sesbania grandiflora* L., entre outras, suprimiram significativamente a atividade saprofítica desse patógeno no solo.

As espécies do gênero *Piper* são largamente aplicadas na medicina popular, em função das propriedades antimicrobianas exibidas por seus constituintes. *Piper aduncum* L., também conhecida como pimenta-longa, pimenta-de-macaco, aperta-ruão, tapa-buraco, pimenta-de-fruto-ganchoso (Maia *et al.*, 1998) e jaborandi-falso (Lemos *et al.*, 2000), atua na cicatrização de ferimentos (Holdsworth & Damasc, 1986) e no tratamento de disfunções intestinais e ginecológicas (Macedo & Oviedo, 1987; Berg, 1993), inibindo o crescimento de vários patógenos humanos e de outros mamíferos, como, por exemplo: *Bacillus subtilis* Cohn em.Prazm., *Candida albicans* (Robin) Berkh., *Cryptococcus neoformans* Duke, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* Schroeter (Cohn), *Mycobacterium intracellulare*, *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula, e *Staphylococcus aureus* (Lemos *et al.*, 2000; Okunade *et al.*, 1997; Orjala *et al.*, 1993). Há relatos, também, do efeito tóxico de extratos de *P. aduncum* contra moluscos (Orjala *et al.*, 1993) e como repelentes de insetos (Escobar, 1972).

Os componentes químicos de algumas espécies da família das piperáceas, entre as quais *P. aduncum*, têm apresentado ação eficaz no controle de fitopatógenos. Nair & Burke (1990) demonstraram que produtos naturais de *P. aduncum*, e seus componentes quimicamente relacionados inibem *in vitro* o crescimento de fitopatógenos, como *Helminthosporium carbonum* Ullstrup, *Alternaria brassicae* (Beck.) Sacc., *A. chrysanthemi* Simmons & Crosier e *Pyrenochaeta terrestris* Hansen, atuando também *in vivo* contra *Erysiphe graminis* var. *tritici* E. Marchal., agente do míldio pulverulento do trigo.

Bastos (1997) demonstrou a ação inibitória *in vitro* e *in vivo* do óleo essencial de *P. aduncum* contra *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, agente causal da vassoura-de-bruxa do cacauero (*Theobroma cacao* L.) e a inibição *in vitro* do crescimento micelial de nove outros fitopatógenos, entre os quais *F. solani* f. sp. *piperis*. A fitoquímica do gênero *Piper* foi revisada por Parmar *et al.* (1997), que listam cerca de 600 constituintes químicos, pertencentes a diferentes classes de componentes bioativos, como alcalóides, amidas e propenilfenóis, entre muitos outros. Estudos realizados por Maia *et al.* (1998) sobre a composição do óleo essencial de *P. aduncum*, coletada em diferentes locais da região amazônica, apontam o dilapiol, um éter fenílico, como seu componente mais abundante.

#### **4.3 MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental (01°28' S; 48°27' W), em Belém, PA, em condições de ambiente semicontrolado, com 50% de interceptação da luz solar e com temperatura e umidade relativa do ar na faixa de 25-35°C e 80-95%, respectivamente.

O solo usado nos experimentos foi do tipo Latossolo Amarelo textura média (oxisol), coletado nos primeiros dois a cinco centímetros de profundidade, em uma área coberta por vegetação de floresta secundária, na região de Belém, Estado do Pará. O espaço de tempo entre a coleta do solo e o início dos experimentos foi de dois dias.

Os resíduos líquidos (RL), ou chorume, e sólidos (RS), ou folhas, utilizados no primeiro experimento, foram cedidos pela CEPLAC/SUPOR, para teste.

Esse material foi obtido durante o processo de extração do óleo essencial de *P. aduncum*, feita pelo método de arraste a vapor. O chorume foi mantido sob refrigeração ( $8 \pm 2$  °C), até sua utilização. Os resíduos de folhas foram secos (75 °C; 3 dias) em estufa de circulação forçada e triturados na forma de pó, imediatamente antes do uso no experimento.

Para os outros experimentos, folhas de *P. aduncum* (PAD) foram coletadas de plantas nativas encontradas no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. Após a coleta, as folhas foram submetidas a secagem, em estufa de circulação forçada (75 °C; 72 h), e trituração, até a forma de pó. O material foi utilizado imediatamente após o preparo. A relação C/N do material de PAD, pronto para utilização, foi de 4,19.

As cepas de *F. solani* f. sp. *piperis* (FSP) utilizadas em todos os experimentos foram obtidas da coleção de fungos fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA.

O programa estatístico STATISTICA for Windows 5.5 (Statsoft, Inc., Tulsa, USA) foi utilizado para analisar todos os dados e para a construir os gráficos.

#### **4.3.1- Efeito de subprodutos da destilação do óleo essencial de *Piper aduncum* na sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino à fusariose.**

**Material Vegetal.** Foram utilizadas estacas de dois nós, obtidas de ramos ortotrópicos de plantas matrizes da cultivar Guajarina, enraizadas por 45 a 60 dias em canteiros sombreados contendo palha de arroz carbonizada.

***Inóculo do patógeno.*** A multiplicação de FSP foi feita em frascos com capacidade para 500 ml, contendo 200 g de meio de solo + farelo de trigo (4:1 massa/massa). Discos de cultura do patógeno ( $\varnothing = 7\text{mm}$ ), em BDA, foram transferidos individualmente para cada frasco e incubados por 15 dias ( $27\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 12 h fotoperíodo). Antes da utilização, o solo-inóculo foi homogeneizado e a concentração determinada pelo método de diluição em série (Dhingra & Sinclair, 1995).

***Experimento.*** A ocorrência de fusariose foi observada em solo de mata não esterilizado, adicionado de 3% de resíduos de folhas (massa/massa) ou 0.35% de resíduo líquido (massa/volume), com ou sem 0,5% de solo-inóculo (484 esporos  $\text{g}^{-1}$  solo), em vasos plásticos com capacidade para 2 Kg de solo.

***Parâmetros avaliados e Análise Estatística.*** A sobrevivência das plantas foi avaliada mensalmente, durante 150 dias, observando-se o aparecimento de sintomas na região do coleto, estabelecendo-se dois valores (0 e 100), para a presença ou ausência de fusariose. A produção de massa seca foi avaliada ao final do experimento, através da determinação da massa seca de folhas, hastes e raízes de cada planta, em estufa de circulação forçada, a  $75^{\circ}\text{C}$ , por 72 horas. Esses dados foram usados para o cálculo dos padrões de alocação de biomassa, isto é, as razões de massa de folha, haste e raiz por unidade de massa da planta inteira. Para a avaliação do comportamento fotossintético das plantas, utilizou-se a folha mais nova, intacta e completamente desenvolvida de cada planta. As medições foram feitas no horário de 9h às 11h, utilizando um sistema de fotossíntese portátil (Modelo LI-6200, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). Foi feita a ANOVA dos dados, para determinar se as diferenças entre tratamentos foram estatisticamente significantes, no que se refere à

sobrevivência de plantas, produção de massa seca, alocação de biomassa e atividade fotossintética. O Teste de Tukey foi aplicado, quando apropriado. A homogeneidade da variância para cada ANOVA foi testada através do teste de Levene.

#### 4.3.2- Efeito da adição de folhas de *P. aduncum* no solo, na incidência de fusariose e no desenvolvimento de plântulas de pimenteira-do-reino.

**Material Vegetal.** Foram utilizadas estacas enraizadas por dois meses, em palha de arroz carbonizada, obtidas de matrizes da cultivar Guajarina, com quatro anos de idade.

**Resíduos foliares de *P. aduncum*.** Folhas frescas de *P. aduncum* (FPAD) coletadas de plantas nativas encontradas no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA, foram secas em estufa de circulação forçada (75 °C; 72 h) e trituradas em forma de pó. O material foi utilizado imediatamente após o preparo.

**Inóculo do patógeno.** Discos de culturas de FSP ( $\varnothing = 7\text{mm}$ ) em BDA (Batata 200 g; Dextrose 20 g; Agar 20 g), com sete dias, foram transferidos individualmente para placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura, as quais foram incubadas sob regime de luz alternado (12 h claro/12 h escuro), por sete dias. A infestação do solo foi feita com uma suspensão aquosa contendo  $5 \times 10^5$  esporos  $\text{ml}^{-1}$ .

**Experimento.** Foi utilizado solo de mata autoclavado (A) por dois dias consecutivos (120 °C, 1 h) e solo natural (N). Os FPAD foram incorporados ao solo contido em vasos com capacidade para 1 kg, em concentrações de 1,5 e 3,0% (massa/massa), 45 dias antes do transplântio das estacas enraizadas. A pré-incubação foi feita em ambiente de casa telada. O patógeno foi adicionado ao solo (20 ml por vaso), após 15 dias de pré-incubação dos resíduos, e os vasos foram novamente incubados, nas mesmas condições anteriores, por mais 30 dias, quando foi procedido o transplântio. Foram testados, ao todo, 12 tratamentos, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2x2x3.



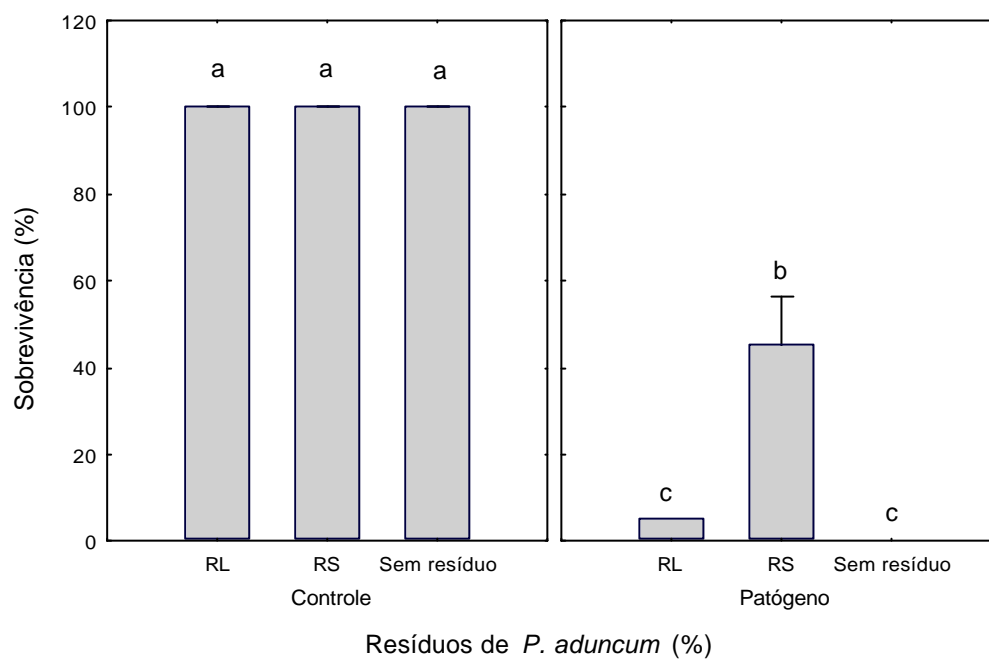
**Parâmetros Avaliados e Análise Estatística.** A mortalidade de planta foi avaliada aos 30, 60 e 90 dias, estabelecendo-se dois valores (0 e 100), para a presença ou ausência de fusariose no coleto da planta. A biomassa microbiana do solo foi avaliada aos 90 dias, pelo método da fumigação-extração (Vance *et al.*, 1987; Tate *et al.*, 1988). A produção de massa seca, a alocação de biomassa e a taxa fotossintética líquida das plantas foram avaliadas aos 90 dias, de acordo com as metodologias descritas para o experimento 1. A sobrevivência de planta foi analisada através de ANOVA para medidas repetidas. Os dados de produção de massa seca e alocação de biomassa foram transformados em logaritmo e em arco seno ( $\sqrt{x/100}$ ), respectivamente, para procedimento do teste univariado de significância, através de GLM (Modelo Linear Geral). Os dados de taxa fotossintética líquida foram analisados pelo Teste Univariado de Significância, através de GLM, sem transformação.

#### **4.4-RESULTADOS**

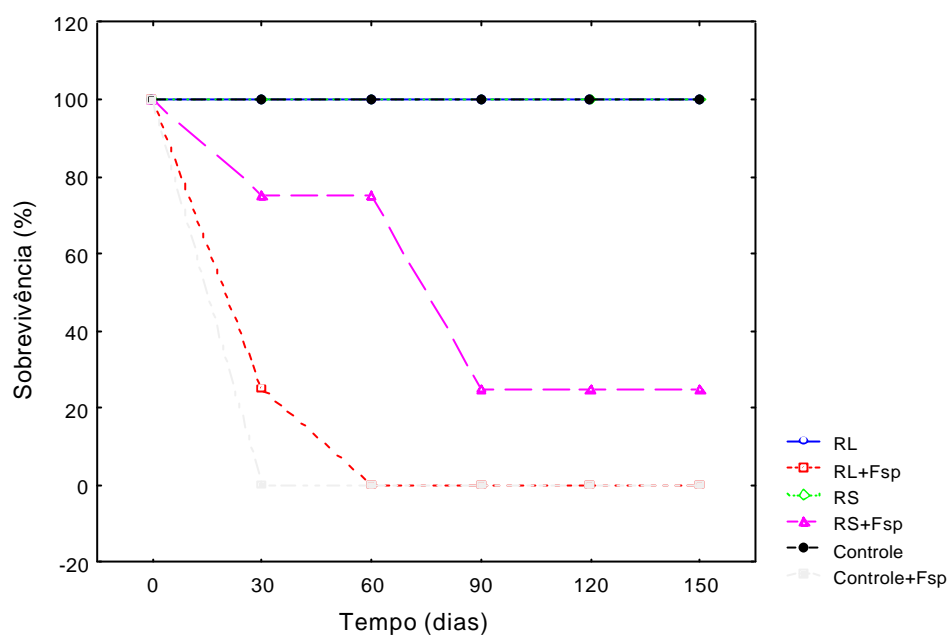
4.4.1- Efeito de subprodutos da destilação do óleo essencial de *Piper aduncum* na sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino à fusariose.

A sobrevivência das plantas de pimenteira-do-reino à fusariose na presença de resíduos sólidos (RS) da extração do óleo essencial de PAD (Fig. 27) foi significativamente superior a da testemunha ( $F_{2,90}=12,17$ ;  $p<0,01$ ; Tab. 21, ANEXOS). Apesar de a sobrevivência das plantas em solo adicionado de resíduos líquidos (RL) não ter diferido estatisticamente da testemunha (Fig. 27), observou-se uma ligeira tendência ao aumento na sobrevivência das plantas na presença desses resíduos. A sobrevivência

das plantas foi prolongada por 150 dias em solo adicionado de RS, enquanto que o mesmo não se observou na presença de RL, onde se observou a sobrevivência das plantas por um período inferior a 60 dias, em comparação com a testemunha (Fig. 28).

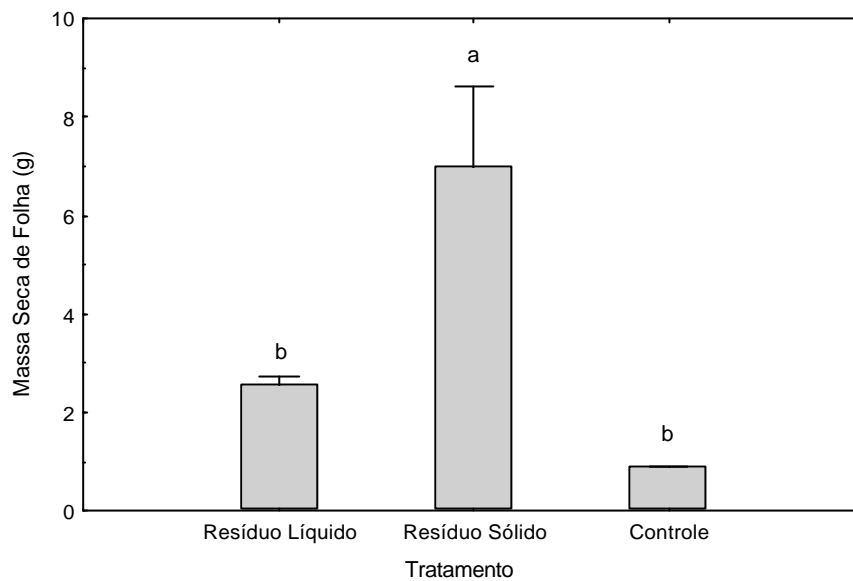


**Figura 27-** Sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino em solo adicionado de resíduos líquidos (RL) ou sólidos (RS) da extração do óleo essencial de *P. aduncum*, durante 150 dias (os dados são média + erro padrão).

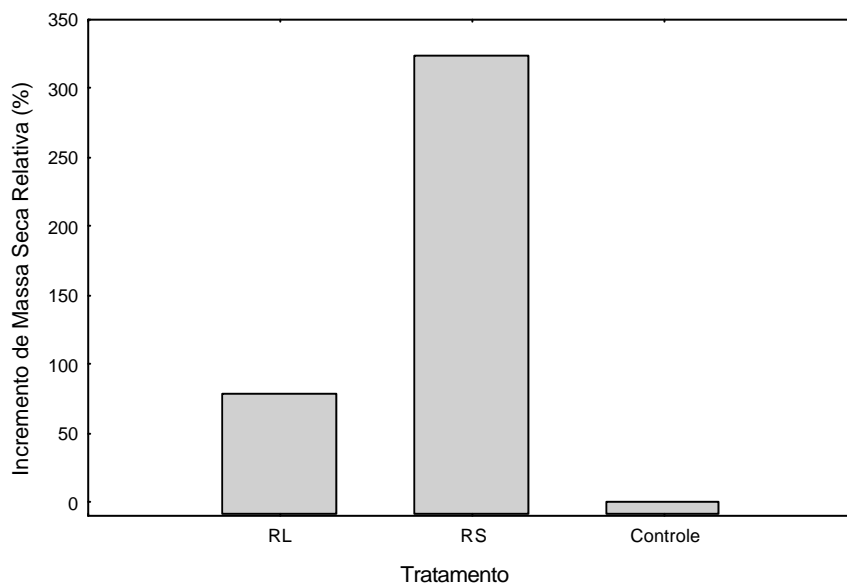


**Figura 28-** Efeito de resíduos líquidos (RL) e sólidos (RS) na sobrevivência de plantas de pimenta-do-reino, no período de 30 a 150 dias.

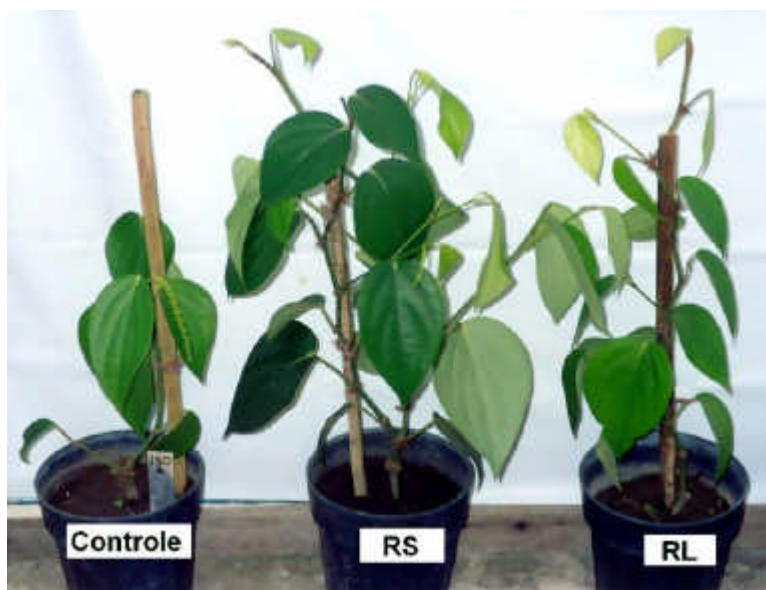
As plantas em solo adicionado de RS e RL de PAD produziram maior quantidade de massa seca, proporcionando Incrementos de cerca de 78 e 324% nas plantas em solo adicionado de RL e RS, respectivamente, em relação à testemunha (Figs. 29, 30, 31).



**Figura 29-** Produção de massa seca de folhas em pimenteira-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos da extração do óleo essencial de *P. aduncum*.

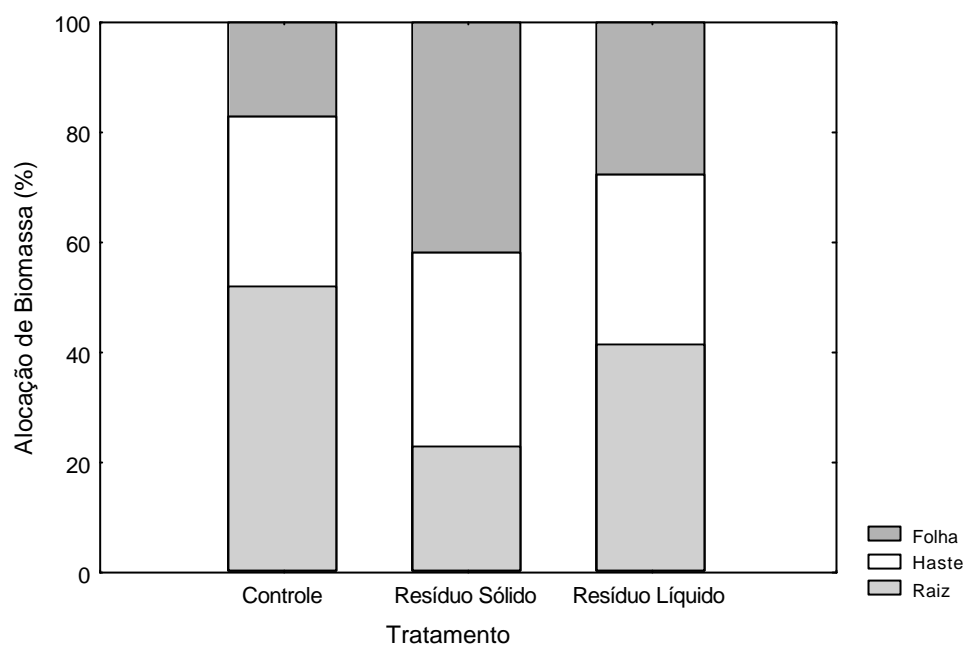


**Figura 30-** Aumento percentual na produção de massa seca relativa de mudas de pimenteira-do-reino cultivadas por 150 dias em solo adicionado de resíduo líquido (RL) ou sólido (RS) da extração do óleo essencial de *P. aduncum*.



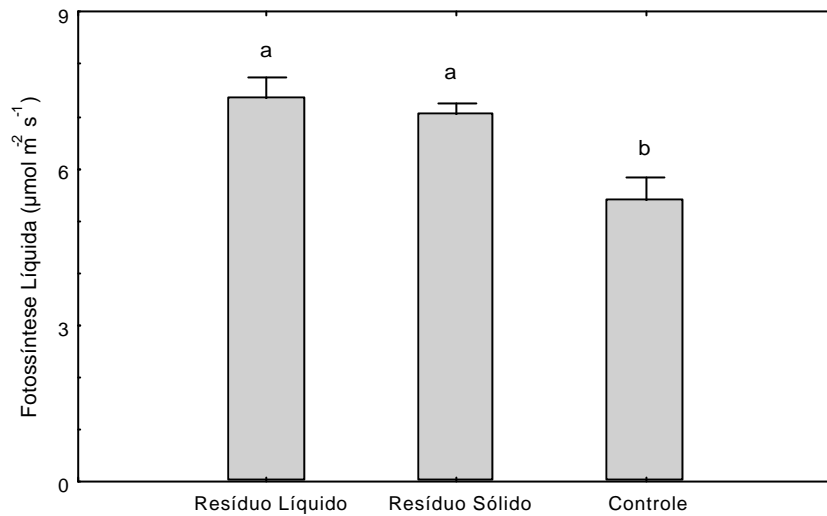
**Figura 31-** Plantas de pimenta-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos sólidos (RS) e líquidos (RL) da extração do óleo essencial de *P. aduncum*.

De modo geral, observou-se a tendência das plantas cultivadas na presença de RS e RL a alocarem carbono preferencialmente para a parte aérea, principalmente para as folhas (Fig. 31).



**Figura 32-** Alocação de biomassa em plantas de pimenteira-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos da extração do óleo essencial de *P. aduncum*.

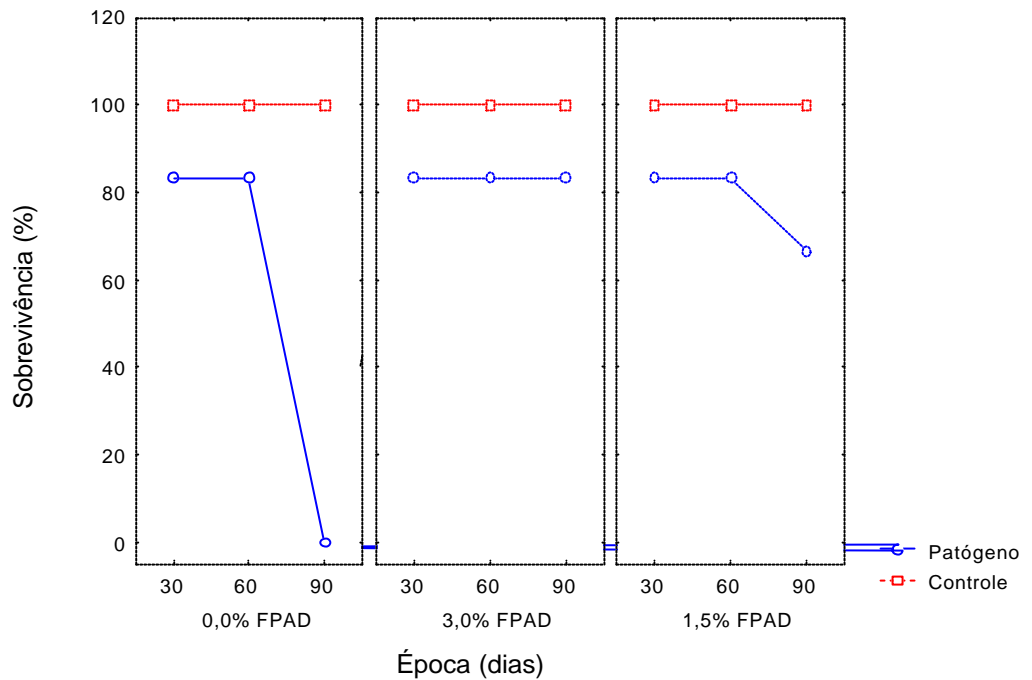
A fotossíntese líquida das plantas em solo adicionado de resíduos de PAD foi significativamente mais alta do que no tratamento testemunha (Fig. 33).



**Figura 33** - Fotossíntese líquida de plantas de pimenteira-do-reino, após 150 dias de cultivo em solo adicionado de resíduos da extração do óleo essencial de *P. aduncum*.

4.4.2- Efeito de resíduos de folhas de *P. aduncum* pré-incubadas no solo, na incidência de fusariose e no comportamento de plântulas de pimenteira-do-reino

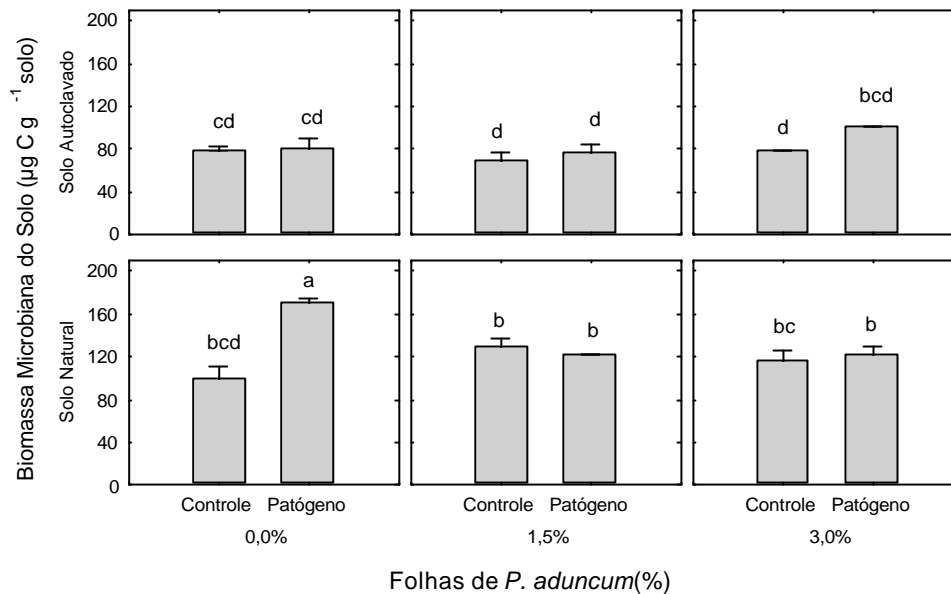
A interação entre concentrações de FPAD, presença de *F. solani* f. sp. *piperis* (FSP) e época de avaliação teve efeito significativo ( $F_{4,48}=10,50$ ;  $p<0,001$ ) na sobrevivência das plantas à fusariose, independente de o solo ter sido autoclavado ou não (Fig. 34; Tab. 24, ANEXOS). A utilização de resíduos de folhas secas e trituradas de *P. aduncum* (FPAD) no solo, sem a prévia extração do óleo essencial, reduziu a mortalidade das plântulas em 66,7 e 83,3%, quando o solo foi adicionado de 1,5 e 3,0% de FPAD, respectivamente, e posteriormente infestado com o patógeno, independente de o solo ter sido autoclavado ou não (Fig. 34).



**Figura 34** Sobrevivência de plantas de pimenteira-do-reino em solo infestado cm *F. solani* f. sp. *piperis* e adicionado de folhas secas e trituradas de *P. aduncum*.

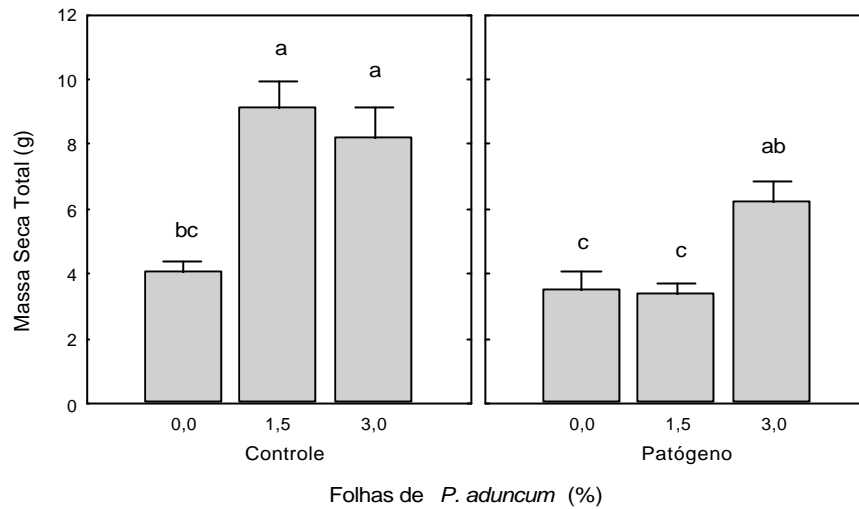
A biomassa microbiana do solo (BMS) também foi influenciada de forma significativa pela interação entre solo, presença de FSP e concentração de FPAD ( $F_{2,12}=13,01$ ;  $p<0,0010$ ; Tab. 25, ANEXOS). De modo geral, a BMS foi mais representativa em solo natural, em comparação com o solo autoclavado, independente da adição de FPAD (Fig. 35). Observou-se, ainda, uma tendência ao aumento da BMS na presença do patógeno, em ambos os solos, em comparação com a testemunha sem FSP, exceto na presença de 1,5% de FPAD, embora só tenha sido possível detectar diferença significativa em solo natural, sem a adição desse resíduo (Fig. 35). A correlação entre a sobrevivência de planta e a BMS foi significativa negativa ( $r=-0,43$ ;  $p=0,034$ ; Tab. 26, ANEXOS).





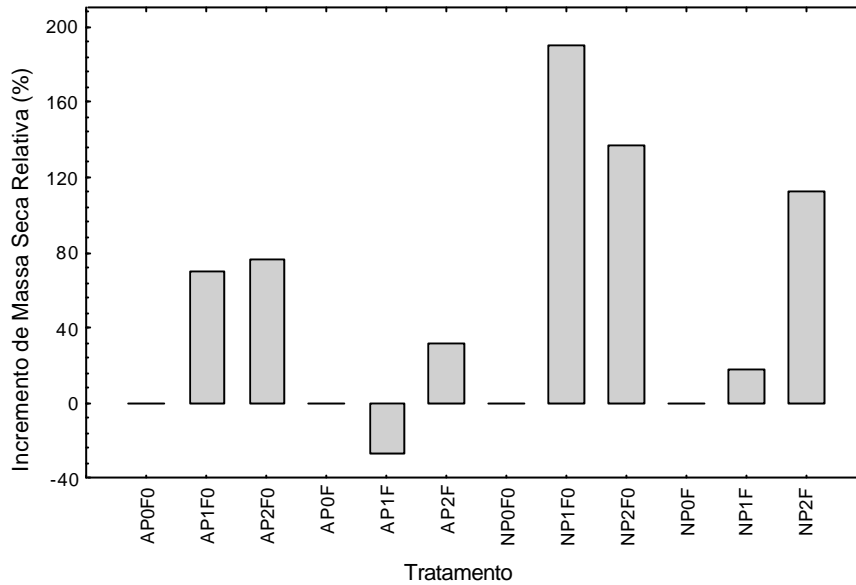
**Figura 35-** Biomassa microbiana em solo adicionado de folhas secas e trituradas de *P. aduncum*. Os valores são médias (+ erro padrão).

A produção de massa seca total das plantas em solo adicionado de FPAD foi significativamente superior àquela do tratamento testemunha ( $F_{2,20} = 10,69$ ;  $p < 0,01$ ; Tab. 27, ANEXOS), particularmente em solo não infestado, independente de o solo ter sido ou não autoclavado (Fig. 36). As plantas em solo adicionado de 3,0% de FPAD e infestado com o patógeno produziram quantidade de massa seca similar à daquelas em solo não infestado, o que não se verificou com as plantas em solo adicionado de 1,5% de FPAD, uma vez que a quantidade de massa seca produzida pelas mesmas não diferiu da testemunha, na presença do patógeno (Fig. 36).



**Figura 36-** Massa seca de plantas de pimenteira-do-reino, após 90 dias de cultivo em solo infestado com *F. solani* f. sp. *piperis* e adicionado de folhas secas de *P. aduncum*.

A adição de 3,0% de FPAD aos solos natural/não infestado, natural/infestado, autoclavado/não infestado e autoclavado/infestado proporcionou incrementos na massa seca das plantas na ordem de 137, 113, 77 e 32%, respectivamente (Fig. 37). Os valores respectivos de Incremento de massa seca relativa para a adição de 1,5% de FPAD ao solo foram de 190, 18, 71 e -27% (Fig. 37). O Incremento negativo observado na massa seca das plantas em solo adicionado de 1,5% deveu-se, provavelmente, à quantidade insuficiente de nutrientes liberada no solo por essa concentração de FPAD, aliada à presença do patógeno.



**Figura 37-** Incremento na produção de massa seca relativa de mudas de pimenteira-do-reino, em solo autoclavado e natural, adicionados de duas concentrações de FPAD. A= solo autoclavado; N= solo natural; P0= sem FPAD; P1= 1,5% FPAD; P2= 3,0% FPAD; F= patógeno; F0= sem patógeno.

Independentemente de o solo ter sido autoclavado ou não, as plantas tenderam a alocar carbono para a parte aérea, inclusive na presença de FSP, especialmente em solo natural (Figs. 38 e 39). A alocação de biomassa foi significativamente superior na presença de FPAD, para as folhas ( $F_{2,20} = 3,955$ ;  $p = 0,0357$ ; Tab. 28, ANEXOS). A interação entre tipo de solo x concentração de FPAD x patógeno foi significativa para a alocação de biomassa de raiz ( $F_{2,20} = 4,157$ ;  $p = 0,0309$ , Tab. 29, ANEXOS).

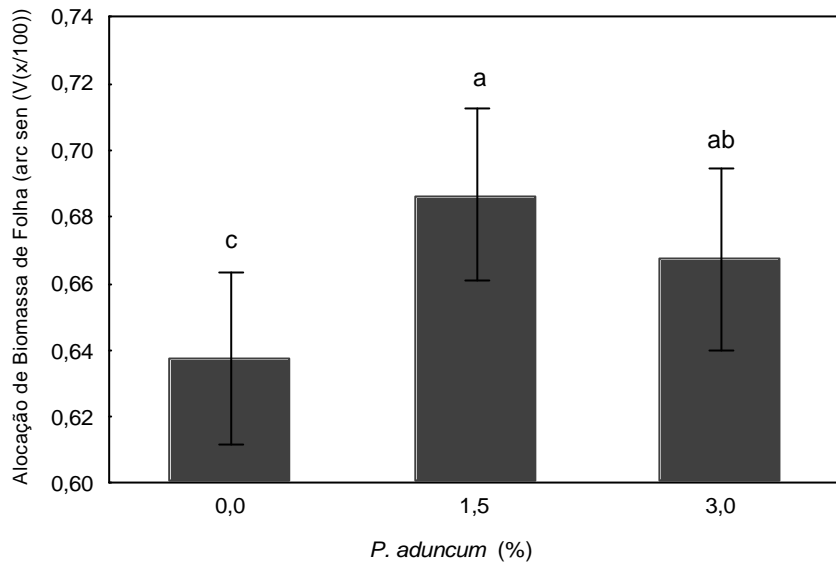
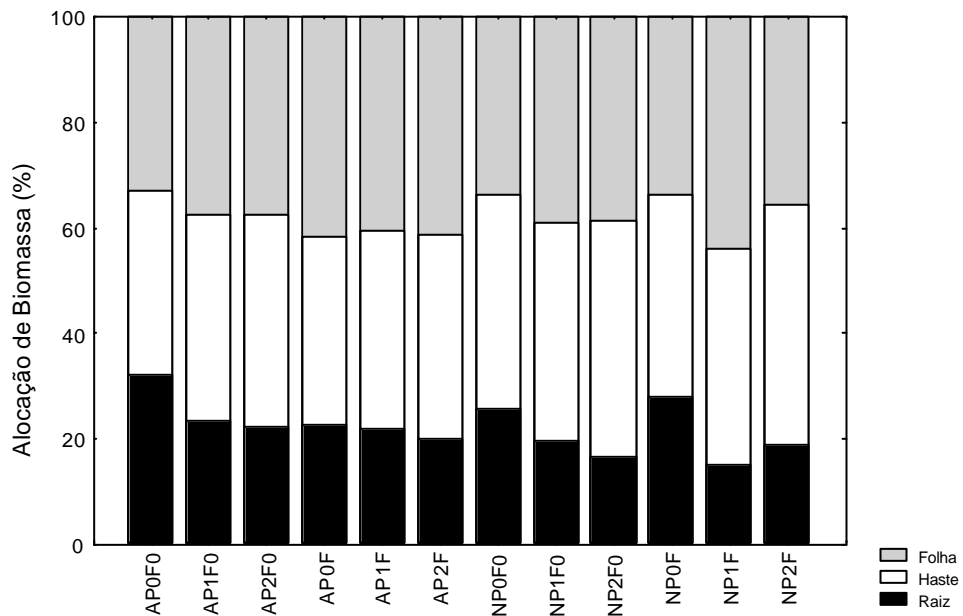


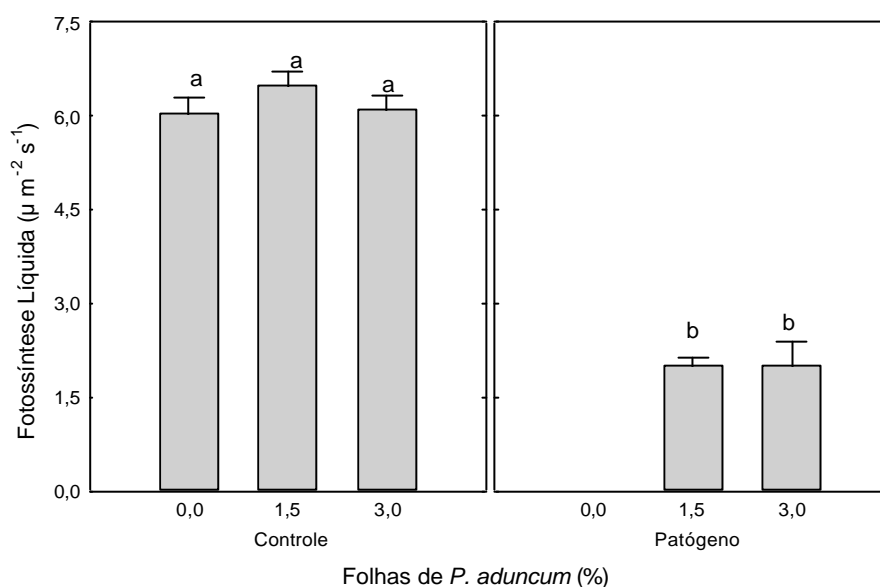
Figura 38- Alocação de biomassa de folha em plantas de pimenta-do-reino cultivadas por 90 dias em solo adicionado de folhas secas e trituradas e *P. aduncum*, com ou sem autoclavagem e infestação por *F. solani* f. sp. *piperis*.

Figura 39- Alocação de biomassa em plantas de pimenta-do-reino, após 90 dias de



cultivo em solo adicionado de resíduos de folhas secas e trituradas de *P. aduncum*.

A taxa de fotossíntese líquida das plantas em solo adicionado de FPAD, independente da concentração utilizada ou do tipo de solo, manteve-se sem alteração em relação à testemunha, na ausência do patógeno (Fig. 40). No entanto, uma redução significativa nessa taxa foi observada para as plantas em solo infestado com FSP, o que seria esperado, em função do comprometimento do sistema radicular dessas plantas ( $F_{2,60} = 4,0675$ ;  $p = 0,0220$ ; Tab. 30, ANEXOS; Fig. 40).



**Figura 40-** Fotossíntese líquida de plantas de pimenteira-do-reino, após 90 dias de cultivo em solo adicionado de folhas de *P. aduncum* secas e trituradas, sem a prévia extração do óleo essencial.

## 5- DISCUSSÃO

O efeito benéfico dos resíduos da extração do óleo essencial de PAD no prolongamento da sobrevivência das plantas, principalmente dos RS, pode ser explicado pela possível ação de alguns componentes presentes nas folhas de dessa piperácea, mais provavelmente do próprio óleo essencial, o qual pode permanecer nos resíduos, em quantidades indeterminadas, após a extração (Maia *et al.*, 1998; José Guilherme Maia, informação verbal). É possível que essas quantidades remanescentes tenham atuado na inibição de FSP no solo, uma vez que o óleo essencial de PAD possui largo espectro de ação antimicótica *in vitro* (Bastos, 1997).

Os Incrementos na massa seca das plantas cultivadas na presença dos resíduos da extração do óleo essencial de PAD foram consideráveis. Embora não haja dados sobre a análise de nutrientes do material utilizado, pode-se inferir que a ação dos nutrientes incorporados no solo pela adição dos resíduos foi responsável por esse efeito. Esse Incremento de massa seca refletiu-se na maior alocação de biomassa pelas plantas para a parte aérea, principalmente naquelas em solo adicionado de RS, indicando que o suprimento de N foi suficiente para reduzir a necessidade de produção de raízes para a absorção de nutrientes (Fitchner (1995).

A maior taxa fotossintética líquida observada nas plantas na presença de RL e RS, em comparação com a testemunha, indicam um efeito benéfico no comportamento fisiológico geral das plantas.

Os testes realizados com resíduos de folhas de *P. aduncum*, sem a prévia extração do óleo essencial (FPAD) evidenciaram o potencial de utilização desse material orgânico no controle da fusariose da pimenteira-do-reino. Os componentes

presentes nas FPAD atuaram durante pelo menos 90 dias no controle da fusariose. A possível necessidade de reaplicação de FPAD no solo, após esse período, não foi determinada nesse experimento. Os resultados obtidos, tanto em solo natural como em solo autoclavado, minimizam, de certa forma, a ação direta inicial dos microorganismos do solo na redução da mortalidade das plantas, apesar da influência positiva exercida pelos FPAD na biomassa microbiana do solo (BMS), a qual foi mais representativa em solo natural. A correlação negativa detectada entre a BMS e a sobrevivência das plantas indica que o aumento da sobrevivência incorreu em diminuição da BMS. Essa correlação, considerada fraca ( $r < 0,50$ ), reforça, de certo modo, a hipótese de que a biomassa microbiana teve papel secundário no aumento da sobrevivência das plantas. Possivelmente, a ação do óleo essencial presente nas FPAD (Bastos, 1997; Maia *et al.*, 1998) foi determinante para a obtenção desse resultado.

A adição de FPAD ao solo estimulou a produção de massa seca total nas plantas de pimenteira-do-reino, provavelmente em função dos nutrientes presentes nesse material orgânico. Hartemink & O'Sullivan (2001), em estudo sobre a decomposição de folhas de espécies componentes da vegetação secundária nas terras baixas da Papua Nova Guiné, demonstraram que as folhas de *P. aduncum* são de fácil decomposição e uma fonte significativa de K, o qual é um dos elementos mais exigidos pela pimenteira-do-reino (Chiba & Terada, 1976; Sanchez, 1981).

A alocação de biomassa nas plantas cultivadas na presença de FPAD, seguindo os padrões observados no experimento anterior, confirmou que o suprimento de N no solo, em consequência da adição de FPAD foi, de certa forma, suficiente para suprir as necessidades das plantas.

Uma vez que esse material, em futuro próximo, poderá ser disponibilizado em larga escala, pode-se concluir, diante desses resultados, que a utilização de resíduos sólidos da extração do óleo essencial de *P. aduncum* é uma alternativa viável de controle da fusariose, sendo necessários testes posteriores desse material, dentro do sistema de produção da pimenteira-do-reino.

## 6- DISCUSSÃO GERAL

Os efeitos observados da CC na sobrevivência de mudas à fusariose da pimenteira-do-reino (FPR) concordam, em parte, com relatos sobre a utilização dessa substância no controle de *Fusarium* spp. em outras culturas, com algumas variações no período de pré-incubação ou na concentração utilizada (Adachi *et al.*, 1987; Mitchell & Alexander, 1961; 1961a). No presente estudo, o período de pré-incubação da CC no solo e a concentração aplicada tiveram as maiores influências na sobrevivência das mudas. Foram necessários, no mínimo, 15 dias de pré-incubação na concentração de 1,0%, para que a CC aumentasse a sobrevivência das plantas à fusariose. O aumento em 20% na sobrevivência das plantas, na presença de 1,0% de CC foi obtido por, no mínimo 90 dias, período de duração do experimento.

As modificações biológicas provocadas no solo pela adição de quitina são relatadas em vários estudos com o gênero *Fusarium* (Adachi *et al.*, 1987; Mitchell, 1963; Mitchell & Alexander, 1962). Essas mudanças biológicas levam a crer que, no presente estudo, os microorganismos degradadores da quitina, oriunda da CC, foram os principais responsáveis pelo prolongamento da sobrevivência das plantas. Embora não tenha sido possível determinar o tipo de microflora presente no solo, o fato da biomassa



microbiana do solo ter sido maior na presença da CC, indicaria a existência dessa microflora específica.

Os benefícios trazidos pela CC às mudas de pimenteira-do-reino, em termos de aumento de produção de massa seca foram evidentes, nas concentrações de 0,5 e 1,0%, exceto quando o período de pré-incubação foi de 60 dias, quando esse efeito não foi mais detectado. É possível especular que o aumento na disponibilidade de N (e outros nutrientes) no solo contribuiu para a obtenção desses resultados, considerando-se que esse elemento está presente na composição da CC (Tabs, 1 e 2, ANEXOS) e é limitante para o desenvolvimento da pimenteira-do-reino (Veloso *et al.*, 1998). Ainda, o aumento na disponibilidade de N e outros nutrientes no solo pode também ter induzido à maior alocação de biomassa para a parte aérea, principalmente para as folhas, como resposta a menor necessidade de produção de raízes para a absorção de nutrientes (Fitchner, 1995).

Observou-se efeito fitotóxico da CC sobre as mudas de pimenteira-do-reino, quando esta foi aplicada na concentração de 2,0%. Esse efeito deletério foi manifestado através da redução na produção de biomassa das plantas, e foi provavelmente induzido pela quitina, ou outros componentes fitotóxicos presentes na CC, ou ainda, pelos produtos resultantes da sua decomposição no solo. Experimentos preliminares mostraram que a adição de 5% de CC ao solo provocou fitotoxidez em mudas de pimenteira-do-reino, detectada pela deformação dos folíolos (R. L. Benchimol, dados não publicados).

A taxa fotossintética líquida (TFL) das mudas de pimenteira-do-reino tendeu a aumentar, ou a permanecer inalterada, na presença de CC, principalmente quando essa substância foi utilizada na concentração de 0,5 ou 1,0%. Menores TFLs, medidas quando a CC foi aplicada a 2,0%, provavelmente refletiram o possível

efeito fitotóxico dessa substância, conforme discutido anteriormente. Observou-se, ainda, redução na TFL das plantas cultivadas em solo autoclavado. No entanto, em ambos os casos, apesar da redução, relativa a outros tratamentos, essas TFLs foram consideradas normais para a pimenteira-do-reino.

Em função dos resultados obtidos, a CC, como forma prevenção da fusariose, seria benéfica a pimenteira-do-reino, quando aplicada em concentrações de até 2,0%.

Os resíduos sólidos (RS) da extração do óleo essencial de *P. aduncum* (PAD) aumentaram o tempo de sobrevivência de mudas de pimenteira-do-reino, em solo infestado por FSP. O efeito dos componentes do óleo essencial de PAD na inibição de FSP, e outros patógenos, demonstrado por Bastos (1997), poderia ser o mecanismo de atuação desses RS sobre o patógeno, uma vez que essa substância não seria totalmente extraída das folhas de PAD pelo processo de destilação a vapor (Maia, comunicação pessoal). Esses componentes também atuaram por um período mínimo de 90 dias contra o patógeno, quando 3,0% (massa/massa) de folhas secas e trituradas de PAD (FPAD) foram aplicadas ao solo.

Os efeitos benéficos das FPAD à pimenteira-do-reino foram também detectados na produção de massa seca, principalmente dos RS, com Incrementos superiores a 300%. A tendência das plantas em alocar biomassa para a parte aérea, principalmente para as folhas, observada na presença dos resíduos da extração de óleo essencial de PAD, foi também observada quando as folhas secas e trituradas foram utilizadas, sugerindo que o suprimento de nutrientes, talvez principalmente o N, causou maior desenvolvimento da folhagem, em detrimento do sistema radicular.

As maiores TFLs observadas na presença das FPAD enfatizam o efeito benéfico dessa substância para as mudas de pimenteira-do-reino.

O hábito alimentar da população, em relação ao caranguejo, gera resíduos em quantidades consideráveis, atualmente descartadas. Esses resíduos seriam provavelmente suficientes para suprir uma possível demanda desse produto, em pequena escala. Isso viabilizaria a incorporação desse produto como técnica auxiliar no controle da FPR, em plantios familiares.

Os resíduos da extração de óleo essencial de PAD, por sua vez, teriam sua disponibilização atrelada ao desenvolvimento, na região amazônica, da indústria ligada ao ramo de produção do óleo essencial de *P. aduncum*. Por outro lado, a utilização das FPAD, sem a prévia extração do óleo essencial, seria mais prontamente viabilizada, uma vez que essa espécie é nativa da região e apresenta características que facilitam seu rápido desenvolvimento (Maia *et al.*, 1998; Hartemink, 1999). A disponibilização da utilização desses materiais orgânicos, ao nível de produtor, está condicionada, no entanto, a testes em campo.

## 6- CONCLUSÕES

1. A casca de caranguejo tem potencial de utilização no controle da fusariose da pimenteira-do-reino.
2. A casca de caranguejo beneficiou o desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino.
3. Os resíduos sólidos da extração do óleo essencial de *Piper aduncum* tem potencial de utilização no controle da fusariose da pimenteira-do-reino.
4. Os resíduos sólidos da extração do óleo essencial de *Piper aduncum* beneficiaram o desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino.
5. Folhas secas e trituradas de *Piper aduncum* – sem a extração do óleo essencial – tem potencial de utilização no controle da fusariose da pimenteira-do-reino.
6. Folhas secas e trituradas de *Piper aduncum* beneficiaram o desenvolvimento de mudas de pimenteira-do-reino.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADACHI, K.; KOBAYASHI, M.; TAKAHASHI, E. Effect of application of lignin and/or chitin to soil inoculated with *Fusarium oxysporum* on the variation of soil microflora and plant growth. **Soil Science and Plant Nutrition** 33:245-260, 1987.
- ALABOUVETTE, C.; COUVEAUDIER, Y.; LOUVER, J. Soils suppressive to *Fusarium* wilt: Mechanisms and management of suppressiveness. In: **Ecology and Management of Soilborne Plant Pathogens**, C. A. Parker, A. D. Rovira, K. J. Moore & P. T. W. Wong (eds.). Saint Paul, APS Press, 1985. p. 101-106.
- ÁLBUM comemorativo do 25<sup>o</sup> aniversário de fundação da Colônia de Tomé-Açú, Estado do Pará, 1929-1954.** Tomé-Açú, Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açú, 1955.
- ALBUQUERQUE, F. C. **Podridão das raízes e do pé da pimenta-do-reino.** Belém, IPEAN, 1961. 45p. (IPEAN, Circular 5).
- ALBUQUERQUE, F. C. **Podridão das raízes e do pé da pimenta-do-reino – segunda contribuição.** Belém, IPEAN, 1964. 23p. (IPEAN, Circular 8).
- ALBUQUERQUE, F. C. **Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* e sua patogenicidade à pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.).** Tese de Mestrado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1976. 63p.
- ALBUQUERQUE, F.C. Podridão das raízes e secamento dos ramos da pimenta-do-reino – Fusariose da pimenta negra. In: **Encontro Nacional de Fitosanitaristas**, Secretaria de Defesa Sanitária, Campinas, 1980. p. 107-117.

- ALBUQUERQUE, F.C. & CONDURÚ, J. M. P. **Cultura da pimenta-do-reino na região amazônica**. Belém, IPEAN, 1971. 149 p.(IPEAN – Série Fitotecnia, v.3, n.2).
- ALBUQUERQUE, F. C. & DUARTE, M. L. R. **Relação entre *Fusarium solani* f. *piperi* e o mal-de-mariquita da pimenta-do-reino**. Belém, IPEAN, 1972. 2 p. (Comunicado Técnico, 18).
- ALBUQUERQUE, F. C. & DUARTE, M. L. R. Pimenta-do-reino e suas doenças na região amazônica. **Correio Agrícola**, n2/3:114-119, 1977a.
- ALBUQUERQUE, F. C. & DUARTE, M. L. R. Sintomas da enfermidade causada por *Nectria haematococca* (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) em pimenta-do-reino. **Fitopatologia brasileira**, 2:63-64, 1977b.
- ALBUQUERQUE, F. C.; HAMADA, M. & DUARTE, M. L. R. *Piper aduncum*, espécie nativa hospedeira de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* na Amazônia brasileira. **Fitopatologia Brasileira**, 22(3):202-204, 1997.
- ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R.; STEIN, R. L. B.; ENDO, T. **Reação de espécies de *Piper* a dois isolados de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis***. Belém, Embrapa Amazônia Oriental. 1998. 4 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, n. 7).
- ALBUQUERQUE, F. C. & FERRAZ, S. Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* e sua patogenicidade à pimenta-do-reino. **Experientae**, 22:133-151. 1976.
- ALBUQUERQUE, F. C.; VELOSO, C. A. S.; DUARTE, M. L. R.; KATO, O. H. **Pimenta-do-reino. Recomendações básicas para seu cultivo**. Belém:

- EMBRAPA-UEPAE de Belém, 1989. 40 p. (EMBRAPA-UEPAE de Belém, Documentos, 12).
- ALEXANDER, M. **Introduction to soil microbiology**. Second Edition. New York, John Wiley and Sons. New York, 1977. 467 p.
- ALI, M.; TAKATSUGU, H. & MIYAGAWA, S. Effects of soil amendment with crab shell on the growth and nodulation of soybean plants (*Glycine max* Merr.). **Plant Production Science**, 1(2):119-125, 1998.
- ANDREWS, J. H. Biological control in the phyllosphere. **Annual Review of Phytopathology**, 30:603-635, 1992.
- BAKER, K. F. & COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco, W. H. Freeman, 1974. 433 p.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiosperma do Brasil**. v.1. Rio de Janeiro, LTC, 1978. 255p.
- BASTOS, C. N. The effect of *Piper aduncum* oil on *Crinipellis pernicioso* and other fungal pathogens. **Fitopatologia brasileira**, 22(3):441-443. 1997.
- BASTOS, C.N. & MENDES, A.C.B. Ação antagônica dos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre *Fusarium solani* f.sp. *piperis*. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA E CUPUAÇÚ, 1.,1996, Belém, PA. **Anais**. Belém, Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. p. 429-434. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).
- BERG, M. E. van den. **Plantas Medicinais na Amazônia: Contribuição ao seu Conhecimento Sistemático**. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, 1993. p. 62-66.

- BOLLER, T. Chitinase: A defense of higher plants against pathogens. In: **Chitin in nature and Technology**. MUZZARELLI, R.; JEUNIAUX, C.; GOODAY, G. W., (eds). New York, Plenum Press, 1986. p. 223-230.
- BOWERS, J. H.; LOCKE, J. C. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in the greenhouse. **Plant Disease**, 84(3):300-305. 2000.
- BRANDÃO, M.; VALARINI, P. J.; MELO, I. S.; MAIA, A. H. Desenvolvimento de uma formulação contendo *Bacillus subtilis* para controle da podridão radicular do feijoeiro. In: Congresso de Fitopatologia, 21, 1998. Botucatu. **Resumos**. p. 123.
- BROADBENT, P.; BAKER, K. & WATERWORTH, Y. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 24, 1971. p. 925-944.
- BROWN, J. A.; NEVILLE, F. J.; SARATHCHANDRA, S. U.; WATSON, R. N.; COX, N. R. Effects of chitin amendment on plant growth, microbial populations and nematodes in soil. In: **Proceedings of the Forty-eight New Zealand Plant Protection Conference**, New Zealand Pastoral Agricultural Research Institute, Hamilton, New Zealand, v.2, 1995. p. 208-212.
- BURKE, D. W. *Fusarium* root rot of beans and behavior of the pathogen in different soils. **Phytopathology**, 55:1122-1126. 1965.
- BURKE, B. & NAIR, M. Phenylpropene, benzoic acid and flavonoid derivatives from fruits of Jamaican *Piper* species. **Phytochemistry**, 25:1427-1430, 1986.
- BURKHOLDER, W. H. The dry root-rot of the bean. Ithaca, Cornell University, v.26, 1919. p. 999-1033.



- CABIB, E. The synthesis and degradation of chitin. **Advances in Enzimology**, 59:59-101, 1987.
- CAMPBELL, C. L. & NEHER, D. A. Challenges, opportunities, and obligations in root disease epidemiology and management. In: **Principles and Practice of Managing Soil borne Plant Pathogens**. HALL, R. (ed.). St. Paul, APS Press, 1996. p. 20-49.
- CENDETECA **Informe técnico**. Santo Domingo, República Dominicana, 1995. p. 110-130.
- CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. D. de. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungos. **Fitopatologia brasileira**, 12:234-235. 1987.
- CHET, I. Biological control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments. In: **Biological Control of Soil borne Plant Pathogens**. HORNBY, D. (ed.). Wallingford, CAB International, 1990. p. 15-26.
- CHET, I. *Trichoderma* – application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogenic fungi. In: CHET, I. (ed.). **Innovative Approaches to Plant Disease Control**. New York, Wiley, 1987. P. 137-160.
- CHIBA, M.; TERADA, S. On the optimum amount of fertilizer based upon de amount of nutrients absorbed by pepper plant in Amazonia region. **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, 20:14-21. 1976.
- COOK, R. J. Twenty-five years of progress towards biological control. In: **Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens**. HORNBY, D. (ed.). Wallingford, CAB International, 1991. p. 1-14.
- COOK, R. J. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 31:81-109. 1993.

- COOK, R. J. Advances in Plant Health Management in the Twentieth Century. **Annual Review of Phytopathology**, 38:95-116, 2000.
- COOK, R. J. & BAKER, K. F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1983. 539p.
- COOPERATIVA AGRÍCOLA MISTA DE TOMÉ-AÇÚ. **Roteiro Ilustrado da Colônia de Tomé-Açu**. Tomé-Açu, CAMTA, 1957. 52 p.
- COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. & BASTOS, C. N. Ação antagonista de *Trichoderma stromaticum* sobre a produção de basidiomas de *Crinipellis pernicioso* no estado da Bahia. **Fitopatologia brasileira**, 25(Suplemento):366, 2000.
- DEACON, J. W. Significance of ecology in the development of biocontrol agents against soilborne plant pathogens. **Biocontrol Science & Technology**, 1:5-20, 1991.
- DE BOER, W.; GERARDS, S.; KLEIN GUNNEVIEK, P. J. A. & MODDERMAN, R. Response of the chitinolytic microbial community to chitin amendments of dune soils. **Biology and Fertility of Soils**, 29:170-177, 1999.
- DONOVAN, A.; ISAAC, S. & COLLIN, H. A. Inhibitory effects of essential oil components extracts from celery (*Apium graveolens*) on the growth of *Septoria apiicola*, causal agent of leaf spot disease. **Plant Pathology**, 46:691-700, 1993.
- DHINGRA, O. D. & SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. 434p.
- DEMMIG-ADAMS, B. & ADAMS III, W. W. Carotenoid composition in sun and shade leaves of plants with different life forms. **Plant, Cell and Environment**, 15(4):411-419. 1992.

- DUARTE, M. L. R. Toxic metabolites of *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* and their role in pathogenesis on black pepper, *Piper nigrum* L. Ph.D. Thesis. London, Imperial College of Science, Technology and Medicine, 1993. 214 p.
- DUARTE, M. L. R. & ALBUQUERQUE, F.C. Eficiência de diferentes fungicidas no tratamento de estacas de pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) infectadas por *Nectria haematococca* (*Fusarium solani* f.sp. *piperis*). **Fitopatologia brasileira**, 6(2):169-175. 1980.
- DUARTE, M. L. R. & ALBUQUERQUE, F.C. Secamento dos ramos da pimenta-do-reino. In: Simpósio do Trópico Úmido, 1, 1984, Belém, PA. **Anais...Brasília**, Embrapa-DID, 1986. p. 383-394.
- DUARTE, M. L. R. & ALBUQUERQUE, F.C. Impacto das doenças de plantas na economia da Amazônia. In: DUARTE, M. L. R. (ed). **Doenças de Plantas do Trópico Úmido Brasileiro. I. Plantas Industriais**. Belém, Embrapa Amazônia Oriental, 1999. p. 15-24.
- DUARTE, M. L. R. & ALBUQUERQUE, F.C. Doenças da cultura da pimenta-do-reino. In: DUARTE, M. L. R. (ed). **Doenças de Plantas do Trópico Úmido Brasileiro. I. Plantas Industriais**. Belém, Embrapa Amazônia Oriental, 1999a. p. 159-208.
- EHTESHAMUL-HAQUE, S.; SULTANA, V.; ARA, J.; QASIN, R. & GHAFAR, A. Use of crustacean chitin and plant growth promoting bacteria for the control of *Meloidogyne javanica* root knot nematode in chickpea. **Pakistan Journal of Nematology**, 15(1-2):89-93, 1997.
- ENCLICLOPEDIA BRITANNICA. **Piperaceae**. Disponível em: <http://www.britannica.com/seco/piperaceae>. Acesso em: 19 jul. 2000.

- ENDO, T. STEIN, R.L.B.; CHU, E.Y. & ALBUQUERQUE, F.C. Controle biológico da fusariose da pimenteira-do-reino In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA E CUPUAÇÚ, 1., 1996, Belém, PA. Anais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. 440p. p. 395-406. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).
- ESCOBAR, A. N. **Flora Toxica de Panama**. Panamá, Editorial Universitaria, 1972. p. 279-281.
- FICHTNER, K. & SCHULZE, E. D. The effect of nitrogen nutrition on growth and biomass partitioning of annual plants originating from habitats of different nitrogen availability. **Oecologia**, 92:236-241, 1992.
- FEIRE, F. C. O. & BRIDGE, J. Influence of different inoculum levels of *Meloidogyne incognita*, *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* and *Phytophthora palmivora* on black pepper plants. **Fitopatologia brasileira**, 10:559-575, 1985.
- FUKUTOMI, M.; HIRAKATA, K. & HAMADA, M. Studies on stem rot and root rot diseases of black pepper: (3) The relationship among four types of symptoms and distribution of degenerated tissues by infection, **Fitopatologia brasileira**, 7:138, 1981. Resumo.
- GAGNON, B. & BERROUARD, S. Effects of several organic fertilizers on growth of greenhouse tomato transplants. **Canadian Journal of Plant Science**. 74(1):167-168, 1994.
- GAZETA MERCANTIL. **Pimenta-do-reino**. n. 714, 2001. p. 3.
- GOODAY, G. The ecology of chitin degradation. **Microbial Ecology**, 10:387-431, 1990.

- GODOY, G.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; SHELBY, R. A. & MORGAN-JONES, G. Chitin amendments for control of *Meloydogine arenaria* in infested soils. 2- Effects of microbial populations. **Nematropica**, 13:63-74, 1983.
- GOVERNO DO PARÁ. **Produção. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Pará.** Disponível em: <http://www.governodopara.pa.gov.br/produção/emater.asp>. Acesso em: 22 jul. 2002.
- GRAHAM, L. S. & STICKLEN, M. B. Plant chitinases. **Canadian Journal of Botany**, 72:1057-1083, 1994.
- GRANGE, M. & AHMED, S. **Handbook on Plants with Pest Control Properties.** New York, John Wiley & Sons, 1988.
- GRAYER, R. J. & HARBORNE, J. B. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. **Phytochemistry**, 37:19-42, 1994.
- GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology.** New York, WILEY-LISS, Inc, 1993. p. 63-101.
- HALLMANN, J.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. & KLOEPPER, J. W. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. **Soil Biology and Biochemistry**, 31:551-560. 1999.
- HARTEMINK, A. E. *Piper aduncum* fallows in the lowlands of Papua New Guinea. In: CAIRNS, M. (ed.). **Indigenous strategies for intensification of shifting cultivation in Southeast Asia.** Bogor, ICRAF, 1999. p. 193-196.
- HIRANO, S. KOISHIBARA, Y.; KITaura, S.; TANEKO, T.; TSUCHIDA, H.; MURAE, K. & YAMAMOTO, T. Chitin biodegradation in sand dunes. **Biochemical Systematics and Ecology**, 19:379-384. 1991.

- HOLDSWORTH, D. & DAMASC, F. Medicinal plants of Morobe Province, Papua New Guinea. **Journal of Crude Drug Research**, 24:217, 1986.
- HOMMA, A. K. O. Por que perder divisas com especiarias. **Correio Agropecuário**, 9(158):6, 1969.
- HOMMA, A. K. O. Além da pimenta-do-reino outras especiarias têm futuro no Brasil. **Agricultura & Pecuária**, Rio de Janeiro, 550:6. 1970a.
- HOMMA, A. K. O. Pimenta doente, assunto nacional. **Correio Agropecuário**, 10(162):6., 1970b.
- HOMMA, A. K. O. Civilização da pimenteira-do-reino na Amazônia. In: HOMMA, A. K. O. (ed.). **Amazônia: meio ambiente e desenvolvimento agrícola**. Brasília, Embrapa-SPI, 1998. p. 61-91.
- HOMMA, A. K. O. & MIRANDA FILHO, L. **Análise da estrutura produtiva da pimenta-do-reino no estado do Pará, 1977/78**. Belém, Embrapa-CPATU, 1979. 68p. (Embrapa-CPATU. Comunicado Técnico, 20).
- HOMECHIN, M. Controle biológico de patógenos do solo. In: BETTIOL, W. (org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, Embrapa-CNPDA, 1991. xiii + 388 p. (Embrapa-CNPDA. Documentos, 15).
- HUANG, J. W. & HUANG H. C. A formulated container medium suppressive to *Rhizoctonia* damping-off of cabbage. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, 41(1):49-56, 2000.
- HUBER, D. M.; WATSON, R. D. & STEINER, G. W. Crop residues, nitrogen and plant disease. **Soil Science**, 100(5):302-308, 1965.

IBGE – BANCO DE DADOS AGREGADOS. **Dados de Previsão de Safra.**

Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf>>. Acesso em: 22 jul. 2002.

INBAR, J. & CHET, I. Evidence that chitinase produced by *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soil-borne plant pathogens by this bacterium. **Soil Biology and Biochemistry**, 23::973-978, 1991.

KITAMURA, P. C.; HOMMA, A. K. O.; FLOHRSCHUTZ, G. H. H. & SANTOS, A. I. **M. A pequena agricultura no nordeste paraense.** Belém, Embrapa-CPATU, 1983. 40 p. (Embrapa-CPATU. Documentos, 22).

KLEMENT, Z.; MAVRIDIS, A.; RUDOLPH, K.; VIDAVER, A.; PEROMBELON, M.C.M. & MOORE, L.W. Inoculation of plant tissues. p. 98, Ch. 1.5. In: Klement, Z.; Rudolph, K. & Sands, D.C. *Methods in Phytobacteriology.* Akademiai Kiadó, Budapest 1990. 567pp.

LEMOS, G. C. S.; OLIVEIRA, L. O.; EBERLY, B. B.; MOTTA, O. V. & FOLLY, M. M. Bactericidal activity of macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) and jaborandi-falso (*Piper aduncum* L.) against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 3(1):67-72, 2000.

LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA: PESQUISA MENSAL DE PREVISÃO E ACOMPANHAMENTO DAS SAFRAS AGRÍCOLAS NO ANO CIVIL. **Pimenta-do-reino.** Rio de Janeiro, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 13(7):1-77, 2001.

- LOPEZ, A. M. Q. **Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. em sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moenchi).** Tese Mestrado. Rio Claro, Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, 1991. 203p.
- LUCAS, J. A. *Plant Pathology and Plant Pathogens*. Oxford, Blackwell Science, 1998. p. 233-248.
- LUMSDEN, R. D.; LEWIS, J. A. & PAPAVIDAS, G. C. Effect of organic amendments on soilborne plant diseases and pathogen antagonists. In: LOCKERETZ, W. (ed.). **Environmentally Sound Agriculture**. Massachusetts, Massachusetts Institute of Technology, p. 51-70, 1982.
- MACEDO, J. C. B. & OVIEDO, S. G. El Aceite Essencial de *Piper aduncum* L. 'Matico Hembra'. **Boletín de la Sociedad Química de Perú**, 53:228-233, 1987.
- MADAMANCHI, N. R. & KUC, J. Induced systemic resistance in plants. In: COLE, G. T. & HOC, H. C. (eds.). **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York, Plenum Press, 1991. p. 347-362.
- MAGALHAES, F. H. L.; ARAUJO, E. & COUTINHO, W. M. Efeito dos óleos essenciais de pequi (*Cariocar brasiliensis*) e de dendê (*Elaeis guianensis*) e dos fungicidas químicos benomyl e captan sobre a microflora de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, 21(Suplemento):369-370, 1996.
- MAIA, J. G. S.; ZOHHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. H. L.; LUZ, A. I. R. & BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavor and Fragrance Journal**, 13:269-272, 1998.



- MAIER, C. R. Effects of soil temperature and selected crop residues on the development and severity of *Fusarium* root rot of bean. **Plant Disease Reporter**, 45:960-964, 1961.
- MALAYSIA. **Country Report to the FAO International Technical Conference on Plant Genetic Resources**. Kuala Lumpur, Ministry of Agriculture, 1995. p. 12-13.
- MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. In: **Revisão Annual de Patologia de Plantas**, 4:261-295. 1996.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: **Controle Biológico, volume 1**. MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (eds.). Jaguariúna, Embrapa, 1998. p. 17-67.
- MELO, I. S.; VALARINI, P. J. & FAULL, J. L. Controle biológico de *F. solani* f. sp. *phaseoli* por *Bacillus subtilis* isolado da rhizosfera de feijoeiro. **Fitopatologia brasileira**, 20 (suplemento):342. 1995.
- MENON, K. P. G. **Pepper Market Review**. Disponível em <http://www.ipcnet.org..> Acesso em 2 jul. 2002.
- MIAN, I. H.; GODOY, G.; SHELBY, R. A.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. & MORGAN-JONES, G. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. **Nematropica**, 12:71-84, 1982.
- MINISTÉRIO DA CIENCIA E TECNOLOGIA. Plantas Aromáticas da Amazônia: Propriedades Inseticida, Fungicida e Usos na Mediação de Controle Biológico. In: **Projetos de Pesquisa Dirigida - Edital PPD 01/98**. Disponível em: <[http://www.mct.gov.br/prog/ppg7/revista\\_PPD/Desenv/desen\\_09.htm](http://www.mct.gov.br/prog/ppg7/revista_PPD/Desenv/desen_09.htm)>. Acesso em: 05 ago. 2002.

- MITCHELL, R. & ALEXANDER, M. The mycolytic phenomenon and biological control of *Fusarium* in soil. **Nature**, 190(4770):109-110, 1961.
- MITCHELL, R. & ALEXANDER, M. Chitin and the biological control of *Fusarium* diseases. **Plant Disease Reporter**, v.45, p.487-490, 1961a.
- MITCHELL, R. & ALEXANDER, M. Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. **Soil Science Society of America Proceedings**, 26:556-558, 1962.
- MITCHELL, R. & ALEXANDER, M. Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. **Soil Science Society of American Proceedings**, 26:556-558, 1968.
- MORAES, W. B. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, EMBRAPA/CNPDA, 1991. p. 157-179.
- NAIR, M. G. & BURKE, B. A. Antimicrobial *Piper* metabolite and related compounds. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 38(4):1093-1096. 1990.
- NASCIMENTO, C. & HOMMA, A. K.O. **A Amazônia: meio ambiente e tecnologia agrícola**. Belém, Embrapa-CPATU, 1984. 282p. (Embrapa-CPATU. Documentos, 27).
- NASH, S. M.; CHRISTOU, T. & SNYDER, W. C. Existence of *Fusarium solani* f. *phaseoli* as chlamydospores in soil. **Phytopathology**, 51:308-312, 1961.
- NASH, S. M. & SNYDER, W. C. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. **Phytopathology**, 52:567-572, 1962.

- OKUNADE, A. L.; HUFFORD, C. D.; CLARK, A. M. & LENTZ, D. Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*. **Phytotherapy Research**, 11:142-144, 1997.
- ORDENTLICH, A.; ELAD, Y. & CHET, I. The role of chitinase of *Serratia marcescens* in biocontrol of *Sclerotium rolfsii*. **Phytopathology**, 78:84-88, 1988.
- ORJALA, J.; ERDELMEIER, C. A.; WRIGHT, A. D.; RALI, T. & STICHER, O. Five new prenylated p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and moluscicidal activity from *Piper aduncum*. **Planta Medica** 59:546-551, 1993.
- PANDEY, V. N. & DUBEY, N. K. Antifungal potential of leaves and essential oils from higher plants against soil phytopathogens. **Soil Biology and Biochemistry**, 26(10):1417-1421, 1994.
- PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, 23:23-54, 1985.
- PAPAVIZAS, G. C. & LUMSDEN, R. D. Biological control of soilborne fungal propagules. **Annual Review of Phytopathology**, 18:389-412. 1980.
- PETER, K. V. & MATHEW, P. A. Foot rot in black pepper. In: **The Hindu**. Kerala, **Online edition of India's National Newspaper**, June 24, 2002. Disponível em <http://www.hinduonnet.com>. Acesso em: 24 jan. 2002.
- PEPPER MARKET REVIEW. **Overseas Market, April-June 2002**. Disponível em <http://www3.jaring.my/sarawakpepper/Review4.pdf> Acesso em: 23 jul. 2002.
- PIMENTEL, D. **Handbook of pest management in agriculture**, v. 2. Boca Raton: CRC Press, 1981. 528p.
- PUNJA, Z. K. & ZHANG, Y. Y. Plant chitinases and their roles in resistance to fungal diseases. **Journal of Nematology**, 25:526-540, 1993.

- RAM, P.; MATHUR, K. & RAM, J. Response of application methods of biocontrol agents either as rhizome pelleting or as soil application, or as both, against rhizome rot of ginger. **Annals of Biology (Ludhiana)**, 13(2):293-296, 1997.
- ROBERTI, R.; CHISELLINI, L. & INNOCENTI, G. Biological control of black leg of beet (*Phoma betae*) by *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 100(2):203-210, 1993.
- SAHAI, A.S. & MANOCHA, M. S. Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interactions. **FMES Microbiological Review**, 11:317-338, 1993.
- SANCHEZ, P. A. **Suelos del tropico: características y manejo**. San Jose, IICA, 1981. 660 p. (Série de libros y materiales educativos, 48).
- SARATHCHANDRA, S. U.; WATSON, R. N.; COX, N.R.; MENNA, M. E. di; BROWN, J. A.; BURCH, G. & NEVILLE, F. J. Effects of chitin amendment of soil on microorganisms, nematodes and growth of white clover (*Trifolium repens* L.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Biology and Fertility of Soils**. 22(3):221-223, 1996.
- SBRAGIA, R. J. Chemical control of plant diseases, an exciting future. **Annual Review of Phytopathology**, 13:257-267, 1975.
- SELVARAJAN, R.; JEYARAJAN, R. Inhibition of chickpea root rot pathogens, *Fusarium solani* and *Macrophomona phaseolina*, by antagonists. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, 26(3):248-251, 1996.
- SIDDAPPA, M. K.; ANILKUMAR, T. B. Factors affecting saprophytic activity of *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, the causal organism of root and foot rots of betelvine. **Journal of Soil Biology and Ecology**, 5(1):7-13, 1985.

- SMITH, A. C. Flora vitiensis nova: A new flora of Fiji. **Pacific Tropical Botanical Garden**, 2:58, 1981.
- SNYDER, W. C.; SCHROTH, M. N. & CHRISTOU, T. Effect of plant residues on root rot of bean. **Phytopathology**, 49:755-756, 1959.
- STATISTICA for windows. General conventions and statistics. Tulsa, StatSoft, Inc., 1995. v. 1, 717p.
- STEIN, R. L. B.; ALBUQUERQUE, F. C.; CHU, E. Y.; ABE, Z.; YONEYAMA, S. & ENDO, T. Levantamento de microorganismos potencialmente ativos contra *Fusarium solani* f.sp. *piperis*. IN: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvimento do trópico úmido. Belém: EMBRAPA-CPATU/JICA, 1996. p. 109-124 (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 85).
- STIRLING, J. L.; COOK, G. A. & POPE, A. M. S. Chitin and its degradation. In: **Fungal walls and hyphal growth**. BURNETT, J. H.; TRINCI, A. P. S. (eds.). London, Cambridge University Press, 1979. p. 169-188.
- SULTANA, V.; EHTESHAMUL, H. S.; ARA, J.; QASIN, R. & GHAFFAR, A. Effect of crustacean chitin on the efficacy of plant growth promoting bacteria in the control of root infecting fungi in sunflower and chickpea. **Acta Agrobotanica**, 53(1):5-12, 2000.
- SUNDHEIM, L. Effect of chitinase encoding genes in biocontrol *Pseudomonas* spp. In: Biological Control of Plant Diseases. TJAMOS, E. C.; PAPAVIDAS, G. C.; COOK, R. J. (eds.). New York: Plenum Press, 1992. p. 331-333.

- SUTTON, J.C. & PENG, G. Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit diseases in crop systems. **Annual Review of Plant Pathology**, v. 31, 1993. p. 473.
- TATE, K. R.; ROSS, D. J. & FELTHAM; C. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: Effects of experimental variables and some different calibration procedures. **Soil Biology and Biochemistry**, 20(3):329-335, 1988.
- THURSTON, H. D. Organic soil amendments. In: THURSTON, H. D. (ed). **Sustainable practices for plant disease management in traditional farming systems**. Boneder, Wesween Press, 1992. p. 100-108.
- TU, C. C.; HSIEH, T. F. & TSAI, W. H. Studies on control of lily southern blight by application of soil amendments. **Journal of Agricultural Research of China**, 41(3):280-294, 1992.
- TYAGI, O. D.; JENSEN, S.; BOLL, P. M.; SHARMA, N. L.; BISHT, K. S. & PARMAR, V. S. Lignans and neolignans from *Piper schmidtii*. **Phytochemistry**, 32:445-448, 1993.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C. & JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, 19(6):703-707, 1987c.
- VELOSO, C. A. C.; MURAOKA, T.; MALAVOLTA, E. & CARVALHO, J. G. de. Diagnose de deficiências de macronutrientes em pimenteira-do-reino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 33(11):1889-1996, 1998.
- VILICH, V.; SIKORA, R. A. Diversity in soilborne microbial communities. In: BOLAND, G. & KUYKENDALL, L. D. (eds.). **Plant-microbe interactions and biological control**. New York, Marcel Dekker Inc., 1997. p. 1-14.

- WEINKE, K. E. The influence of nitrogen on the root disease of bean caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. **Phytopathology**, 52:757, 1962. (Abstr.).
- WELLS, H. D. *Trichoderma* as a biocontrol agent. In: **Biocontrol of Plant Diseases**. MUKERJI, K. G.; GARG, K. L., (eds.). Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 211.
- YANG, J. K.; S, I. L.'TZENG, Y. M.; WANG, S. L. Production and purification of protease from a *Bacillus subtilis* that can deproteinize crustacean wastes. **Enzyme and Microbial Technology**, 26:406-413, 2000.
- ZAKARIA, M. A.; LOCKWOOD, J. L. & FILONOW, A.B. Reduction in *Fusarium* population density in soil by volatile degradation products of oilseed meal amendments. **Phytopathology**, 70:495-499. 1980.
- ZEVEN, A. C. Black pepper. In: SIMMONDS, N. W. (ed.). **Evolution of crop plants**. London, Longman, 1976. p. 234-235.
- ZHANG, P.G.; SUTTON, J.C.; TAN, W.; HOPKIN, A.A. *Gliocladium roseum* reduces physiological changes associates with infection of black spruce seedlings by *Botrytis cinerea*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 18:7-13, 1996.