



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

VERÔNICA D'ADDAZIO

Crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e respostas de cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) ao estresse abiótico e biótico: biometria, fotossíntese, resistência e avaliação de produtos alternativos de controle da fusariose

VITÓRIA - ES

2017

VERÔNICA D'ADDAZIO

Crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e respostas de cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) ao estresse abiótico e biótico: biometria, fotossíntese, resistência e avaliação de produtos alternativos de controle da fusariose

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto

Co-orientador: Prof. Dr. Adriano Alves Fernandes

Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva

VITÓRIA - ES

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP) (Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

D121c D'Addazio, Verônica, 1974-
Crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e respostas de cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) ao estresse abiótico e biótico : biometria, fotossíntese, resistência e avaliação de produtos alternativos de controle da fusariose / Verônica D'Addazio. – 2017. 223 f. : il.

Orientador: Antelmo Ralph Falqueto.

Coorientadores: Adriano Alves Fernandes, Marcelo Barreto da Silva.

Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Pimenta-do-reino. 2. *Fusarium solani*. 3. Silício. 4. Fluorescência. 5. Biometria. 6. Déficit hídrico. I. Falqueto, Antelmo Ralph, 1979-. II. Fernandes, Adriano Alves. III. Silva, Marcelo Barreto da. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. V. Título.

CDU: 57



Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO


Verônica D'Addazio

"Crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e respostas de cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) ao estresse abiótico e biótico: biometria, fotossíntese, resistência e avaliação de produtos alternativos de controle da fusariose"

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Vegetal.

Aprovada em 29 de agosto de 2017.

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto (UFES)
Orientador e Presidente da Comissão


Prof.ª Dr.ª Diolina Moura Silva (UFES)
Examinadora interna


Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte (UFES)
Examinador interno


Prof. Dr. Edilson Romais Schmildt (UFES)
Examinador externo


Prof.ª Dr.ª Rosana Sambugaro (UFES)
Examinadora externa

DEDICATÓRIA

À Deus.

À meus pais, Marísia e Norival.

*À todos aqueles que fizeram desse sonho
uma realidade.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES);

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV);

Ao centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES);

À CAPES, pela concessão da bolsa;

À FAPES, pelo financiamento do projeto de pesquisa;

À Deus, pela justiça e pela bondade. Por me fazer sua filha e acreditar em mim nessa jornada a qual chamamos "Vida".

Ao Prof. Dr. Antelmo Falqueto, pela orientação, pela confiança, por embarcar comigo nesse projeto, pelo conhecimento transmitido, pela paciência, pelos conselhos, pelos puxões de orelha, por ajudar no tutoramento de 2.000 mudas sob 40 graus, por falar "calma" nas horas de desespero, por tornar meu sonho realidade. À você, eterno Chefe, todo o meu respeito!

Ao Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva, pela confiança em mim depositada, pela co-orientação, pelos ensinamentos e pelas caronas para UFV;

Ao Prof. Dr. Adriano Alves Fernandes, pela co-orientação, pelos ensinamentos, pela paciência nos cálculos da solução nutritiva e por acreditar que tudo daria certo;

Aos Profs. Drs. Ludwig Pfenning (UFLA) e José Aires Ventura (INCAPER), pela concessão dos isolados fúngicos;

À Profa. Dra. Diolina Moura Silva, pela participação na banca e pelos conhecimentos transmitidos nas aulas de campo em Fisiologia Vegetal. Lembra que cheguei atrasada no primeiro dia de aula e você disse que eu não ia entrar?? Gostei de você nesse momento... rsrs

À Profa. Dra. Rosana Sambugaro, pela participação na banca, pela contribuição na defesa da qualificação e na reta final da Tese. Obrigada pela luz no fim do túnel. Gratidão!

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte, pela participação na banca e pelos aconselhamentos na defesa da qualificação. Valiosos!

Ao Prof. Dr. Edilson Romais Schmidt, pela participação na banca e pela valiosa contribuição na estatística experimental. Ao Prof. Dr. Cosme Damião Cruz (UFV), obrigada!

Aos Profs. Drs. do PPGBV e do PPGAT, pelos conhecimentos transmitidos nas disciplinas;

Aos Profs. Drs. Andréia Barcelos, Diolina M. Silva, Edney Vitória, Elisa Aoyama, Fábio Pires, Ivoney Gontijo, Luís Fernando Menezes, Márcio Czepack, Mônica Tognella, Vander Tosta e Marcelo Barcellos (UFSM), pelos empréstimos de equipamentos, vidrarias, reagentes, análises realizadas e ensinamentos. Vocês fizeram a diferença!

Aos laboratórios de Ecofisiologia Vegetal, Fitopatologia, Nutrição Mineral de Plantas, Solos e de Ecossistema de Restinga e Manguezais e à Fazenda experimental do Ceunes;

Ao Sr. Paulo Tonetto, do viveiro Pingo de Ouro, pelas mudas de pimenta-do-reino, pela alegria e confiança de sempre;

À Ednilson Pimenta, profissional capacitado e com humildade tamanha para atender às minhas dúvidas sobre o cultivo da pimenta-do-reino;

À minha família, meu pai Norival e minha mãe Marísia, por aceitarem meus erros e acertos, minhas derrotas e minhas vitórias. Obrigada por serem meus pais. Às minhas irmãs Anna Paula e Bianca e meu sobrinho Nícollas, por compreenderem minha ausência e dedicação aos estudos. Aos meus avós Hiveraldo D'Addazio e Sylvia Stelmann. Um dia nos encontraremos na eternidade! À todos os que estão na verdadeira vida e fizeram minha infância e adolescência inesquecíveis. Saudades eternas!!

Ao meu companheiro de vida, Adriano Alves Fernandes, por tudo que já passamos e vencemos, desde que nos encontramos. Por toda fé e coragem, pelas dores e pelas alegrias, por acreditar que eu era capaz antes mesmo que eu pudesse imaginar isso... meu plano de vida é ser feliz.....com você ao meu lado!

Às minhas lindas, Maria e Ana, razão da minha existência. Vocês foram a melhor coisa que aconteceu em minha vida. Agradeço por estarem comigo nesse desafio, aceitando minhas faltas, as muitas horas fora de casa e a atenção indevida que dispensei a vocês durante todo o doutorado. Amo vocês além do infinito!

Aos amigos de caminhada, espíritas, católicos e evangélicos, pelas orações e vibrações de paz. Deus seja com vocês! À Leila Cruz e família, pelo acolhimento e pelo carinho nas idas à Vitória;

À assessora para assuntos aleatórios, Renata Ahnert, pela amizade, pela competência, por me acompanhar nas loucuras, por colocar fogo no laboratório junto comigo, por escutar meus choros e desabafos e pelas infinitas risadas. Afinal, "tem que ter emoção!!"

Aos queridos João Vitor Garcia, Lana Longue e Adriele pelas horas mais incríveis que passamos na fazenda. Amo vocês!!! À Arthur Salomão, presente em boa parte do projeto, Henrique, Lucas 1, Lucas 2, Viviane, Myllena e tantos outros. Obrigada por todo auxílio dispensado;

Aos "Levianos" originais André Felipe C. Souza, Jadson Zampirolo, Lourdes Marcarini, Priscila S. Braga, Rodrigo Fantin e Thais S. Costa. Saudade dos nossos cafés, das conversas jogadas fora, das idas à campo, da presença de cada um em minha vida!

À Thaís Araújo, "filha de Diolina", pela disponibilidade em fazer as medições com o IRGA, com sol ou com chuva.... Muito bom ter você com a gente!

Aos técnicos Eliane Pina, Francisco, Joel, Jeferson, Gleison, Alex e Renan, sempre prontos a me ajudar. Muito obrigada!

À todos que, porventura não citei aqui por simples falta de espaço (não posso ultrapassar duas páginas...), mas que foram importantes para que essa Tese fosse concluída, o meu mais sincero agradecimento!

“O Senhor é meu Pastor e nada me faltará. Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas...”

(Salmos, 23:1-2)

*“Mas é preciso ter manha
É preciso ter graça
É preciso ter sonho sempre
Quem traz na pele essa marca
Possui a estranha mania
De ter fé na vida”*

(Maria Maria – Milton Nascimento)

*Se cultivares amor na execução do dever que
a Divina Providência te atribui, nunca experimentarás
cansaço ou desencanto, porque o trabalho se te fará
fonte de alegria, na alegria de ser útil.*

(F.C. Xavier/Emmanuel)

RESUMO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) e o Espírito Santo é o primeiro colocado entre os estados brasileiros, com uma produção de 37 mil toneladas do grão. A fusariose, causada por *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, é considerada a principal doença da pimenteira, caracterizada pela podridão das raízes e secamento dos ramos. O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência de cultivares de pimenta-do-reino (Kottanadan e Bragantina) ao estresse abiótico (déficit hídrico) e biótico (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*), visando caracterizar o comportamento fisiológico das plantas, a interação planta-patógeno e avaliar a eficiência de produtos alternativos no controle da fusariose. Três experimentos foram realizados. Primeiro - avaliação *in vitro* do crescimento micelial de quatro isolados de *F. solani* f. sp. *piperis*, cultivados em diferentes produtos, revelando que o silício e quitosana induziram o crescimento fúngico, enquanto fosfito inibiu em 100%. Foi observado um efeito fungistático e fungitóxico do Carbendazim e os produtos não foram dose-dependentes para as condições do estudo (Capítulo 1). Segundo - realizado em casa de vegetação, este experimento comparou o desempenho fisiológico das cultivares Kottanadan e Bragantina submetidas ao déficit hídrico. Aos 12 dias de déficit hídrico, menores alterações fotoquímicas associadas à 90% de sobrevivência conferem à cv. Kottanadan maior tolerância ao déficit hídrico. A fotoinibição crônica observada para a cv. Bragantina sustenta esse resultado (Capítulo 2). Terceiro - foi realizado em viveiro e objetivou avaliar os parâmetros epidemiológicos (Capítulo 3), biométricos (Capítulo 4) e fotossintéticos (Capítulo 5) das cultivares de pimenta-do-reino inoculadas com *F. solani* f. sp. *piperis* bem como o efeito de produtos alternativos de controle da doença como silício, fosfito e quitosana, aplicados preventivamente e curativamente. Maior nível de resistência à doença foi observado para a cv. Kottanadan, considerando maior período de incubação e as menores taxas de progresso, índices de infecção, incidência e severidade da doença. De modo geral, maiores valores dos parâmetros biométricos observados para a cv. Kottanadan revelam que esta cultivar foi menos afetada pela doença quando comparada à cv. Bragantina. A correlação negativa observada entre os parâmetros biométricos e a incidência e severidade da doença confirmam esses resultados. Independentemente da severidade da doença, plantas inoculadas com *F. solani* f. sp. *piperis* permaneceram fotossinteticamente ativas após 180 dias. Entretanto, a cv. Kottanadan foi mais resistente ao *Fusarium*, considerando os

maiores valores do teor relativo de clorofila, dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas analisados. Em ambas as cultivares, apesar da similaridade observada entre as épocas de aplicação dos produtos alternativos, plantas suplementadas com silício, fosfito e quitosana, apresentaram melhor comportamento comparativamente às plantas infectadas e não suplementadas. Fosfito e Silício são mais eficientes para a supressividade da fusariose e indução de resistência, considerando a menor incidência e severidade da doença, invariabilidade da produção de biomassa e da maioria dos parâmetros fotossintéticos para a cv. Kottanadan.

Palavras-chave: Biometria • crescimento micelial • déficit hídrico • epidemiologia • fluorescência da clorofila *a* • pimenta-do-reino

ABSTRACT

Brazil is the third largest black pepper (*Piper nigrum* L.) producer of the world and the Espírito Santo State is the first producer among the Brazilian states, with a production of 37 thousand tons of grain. Fusariosis, caused by *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, is considered the major diseases affecting black pepper, characterized by root rot and branch drying. The objective of this study was to evaluate the resistance of black pepper cultivars (Kottanadan and Bragantina) to abiotic (water deficit) and biotic (*Fusarium solani* f. *piperis*) stress, in order to characterize the physiological behavior of the plants, the plant-pathogen interaction and to evaluate the alternative products efficiency in controlling the fusariosis. Three experiments were performed: first - *In vitro* evaluation of mycelial growth of four isolates of *F. solani* f. sp. *piperis*, cultivated in different products, revealing that silicon and chitosan induced fungal growth, while phosphite inhibited 100%. It was observed a fungistatic and fungitoxic effect of the Carbendazim and the products were not dose dependent for the study conditions (Chapter 1). Second - carried out in greenhouse conditions, this experiment compared the physiological performance of two black pepper cultivars (Kottanadan and Bragantina) submitted to water deficit. At 12 days of water deficit, lower photochemical changes associated with 90% survival confer to Kottanadan black pepper cultivar increased tolerance to water deficit. Chronic photoinhibition observed in Bragantina cultivar sustains this result (Chapter 2). Third - carried out in plant nursery conditions, this experiment aimed to evaluate the epidemiological (Chapter 3), biometric (Chapter 4) and photosynthetic parameters (Chapter 5) of the pepper cultivars inoculated with *F. solani* f. sp. *piperis* as well as the effect of alternative products for controlling (silicon, phosphite and chitosan), applied preventively and curatively. Higher level of disease resistance was observed for Kottanadan pepper cultivar, considering a higher incubation period and lower rates of progression, infection index, and both incidence and severity of disease. In general, higher values of biometric parameters observed for Kottanadan show that this cultivar was less affected by the disease when compared to Bragantina cultivar. The negative correlation between biometric parameters and incidence and disease severity confirm these results. Independently of disease severity, plants inoculated with *F. solani* f. sp. *piperis* remained photosynthetically active after 180 days. However, the Kottanadan black pepper cultivar was more resistant to *Fusarium*, considering the higher values of the relative chlorophyll content, chlorophyll *a*

fluorescence and gas exchange parameters analyzed. In both pepper cultivars, in spite of the similarity observed between application times of the alternative products, plants supplemented with silicon, phosphite and chitosan showed better behavior compared to infected and non-supplemented plants. Phosphite and Silicon are more efficient for both suppressivity of fusariosis and resistance induction, considering the lower incidence and disease severity, the invariability of the plant biomass production as well as the majority of photosynthetic parameters for the Kottanadan black pepper cultivar.

Keywords: Biometry • mycelial growth • water deficit • epidemiology • chlorophyll *a* fluorescence • black pepper

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Pimenta-do-reino: ramo de floração	28
CAPÍTULO 1 – Evaluation of <i>in vitro</i> inhibition of mycelial growth of <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> by different products in Brazil.	46
Figura 1: Effect of chitosan, silicon phosphite and carbendazim on the mycelial growth of <i>F. solani</i> isolates	49
CAPÍTULO 2 - Respostas fisiológicas e biométricas de plantas de pimenta-do-reino submetidas ao déficit hídrico	54
Figura 1: Esquema de implementação do déficit hídrico (DH).....	61
Figura 2: Porcentagem de sobrevivência de plantas de pimenta-do-reino, cultivares Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), após 3 ciclos de déficit hídrico.....	64
Figura 3: Conteúdo relativo de água (CRA) em folhas das cultivares Kottanadan e Bragantina e cultivar Kottanadan, após 10 e 12 DDH.	65
Figura 4: Massa de matéria fresca da parte aérea, massa de matéria seca da parte aérea, massa de matéria fresca da raiz, massa de matéria seca da raiz, volume de raiz e número de folhas das cultivares Kottanadan e Bragantina, submetidas ao DH.	69
Figura 5: Variação nas razões F_0/F_m e F_v/F_0 ; Fluxo de absorção de energia por centro de reação; Fluxo de captura de energia por centro de reação; Fluxo de transporte de energia por centro de reação e fluxo de energia dissipada por centro de reação de plantas de pimenta-do-reino, cultivares kottanadan e Bragantina, submetidas ao DH.	71
Figura 6: Índice de desempenho para a conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos aceptores finais do FSI, cultivares Kottanadan e Bragantina e cultivar Kottanadan, após 10 e 12 DDH.....	72
Figura 7: Rendimento quântico máximo do FSII; Rendimento quântico máximo de transporte de energia entre o FSII e FSI; Rendimento quântico da redução para os aceptores finais do FSI; Probabilidade de um éxciton capturado mover um elétron para além da Q_A^- ; Rendimento quântico máximo de fótons absorvidos pelo FSII e transportados da água até os aceptores de elétrons do FSII em duas cultivares de pimenta-do-reino, submetidas ao DH.....	74
CAPÍTULO 3 - Efeito do silício, fosfito e quitosana sobre os componentes epidemiológicos da fusariose na pimenta-do-reino	95
Figura 1: Disposição dos tratamentos em viveiro.	106
Figura 2: Curva de progresso da fusariose, aos 180 DAI, em plantas de pimenta-do-reino suplementadas com Silício, Fosfito e Quitosana, antes e após a inoculação.....	107
Figura 3: Incidência (%) de <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> em pimenta-do-reino, aos 180 DAI em plantas tratadas com Silício, Fosfito e Quitosana, preventivamente e curativamente	108
Figura 4: Efeito do Silício, Fosfito e Quitosana, em duas épocas de aplicação (preventiva e curativa) na severidade de <i>F. solani</i> em duas cultivares de pimenta-do-reino.....	109
Figura 5: Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência (AACPDI) e severidade (AACPDS), avaliadas aos 180 DAI, em duas cvs. de pimenta-do-reino,	

considerando a média dos tratamentos controle e daqueles com aplicação preventiva e curativa com Silício, Fosfito e Quitosana.	111
Figura 6: Taxa de progresso da doença e período de incubação de <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i> inoculado em plantas de pimenta-do-reino tratadas com Silício, Fosfito e Quitosana, 30 e 15 dias antes da inoculação e 15 e 30 dias após a inoculação.....	112
CAPÍTULO 4 – Biometria da pimenta-do-reino inoculada com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e suplementada com Silício, Fosfito e Quitosana.....	
Figura 1: Disposição dos tratamentos em viveiro ..	145
Figura 2: Massa de matéria fresca total (MFT); massa de matéria fresca da parte aérea (MFPA); massa de matéria fresca da raiz (MFR) e número de folhas (NF) das cultivares Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente.....	147
Figura 3: Comprimento total da planta (CT); comprimento da parte aérea (CPA); comprimento de raiz (CR); volume de raiz (VR) e diâmetro do coleto (DC) das cultivares Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente.....	149
Figura 4: Massa de matéria seca total (MST); massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca da raiz (MSR) das cultivares Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente..	151
CAPÍTULO 5 - Influência de Silício, Fosfito e Quitosana na fluorescência da clorofila <i>a</i>, pigmentos fotossintetizantes e trocas gasosas em plantas de pimenta-do-reino inoculadas com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>.....	
Figura 1: Disposição dos tratamentos em viveiro..	177
Figura 2: Teor relativo de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> e clorofila total em plantas de pimenta-do-reino, cv. Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, com aplicação preventiva e curativa.....	179
Figura 3: Curva da fluorescência transiente OJIP da clorofila <i>a</i> em folhas de pimenta-do-reino, cultivares Kottanadan e Bragantina, inoculadas com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente ..	180
Figura 4: Banda L nas cultivares de pimenta-do-reino Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, com aplicação preventiva e curativa.....	181
Figura 5: Banda K nas cultivares de pimenta-do-reino Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, com aplicação preventiva e curativa.....	182
Figura 6: Parâmetros do teste JIP: fluorescência inicial (F_0); eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m); fluxos específicos por centro de reação (RC) em termos de absorção (ABS/RC) e dissipação (DI_0/RC); índice de desempenho total (PI_{Total}) para as cultivares Kottanadan e Bragantina, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente.....	184
Figura 7: Concentração interna de CO_2 (C_i); taxa de transpiração ($E - mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$); condutância estomática ($g_s - mol\ m^{-2}\ s^{-1}$); fotossíntese líquida ($A - \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$); eficiência intrínseca do uso da água ($A/g_s - \mu mol\ CO_2\ mmol^{-1}\ H_2O$) e eficiência da carboxilação ($A/C_i - \mu mol\ mmol^{-1}\ ppm^{-1}$) de duas cultivares de pimenta-do-reino, suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente, 150 DAI com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	186

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - Evaluation of <i>in vitro</i> inhibition of mycelial growth of <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> by different products in Brazil.	46
Table 1: Colony diameter and percent growth of <i>F. solani</i> isolates in chitosan, silicon, phosphite and carbendazim.	50
CAPÍTULO 2 – Respostas fisiológicas e biométricas de plantas de pimenta-do-reino submetidas ao déficit hídrico.	54
Tabela 1: Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de duas cultivares de pimenta-do-reino, submetidas a 10 DDH. Chl <i>a</i> = clorofila <i>a</i> ; Chl <i>a/b</i> = razão clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i> ; Carot. = carotenoides, representando as médias do fatorial com significância apenas para cultivar.	66
Tabela 2: Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de duas cultivares de pimenta-do-reino, submetidas ao DH. Chl <i>b</i> = clorofila <i>b</i> e Chl total = clorofila total, representando as médias do fatorial com significância apenas para déficit hídrico.	67
Tabela 3: Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas adultas de duas cultivares de pimenta-do-reino, submetidas ao DH. Chl <i>a</i> = clorofila <i>a</i> ; Chl <i>a/b</i> = razão clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i> ; Carot. = carotenoides, representando as médias do fatorial com interação significativa..	67
Tabela 4: Concentração de pigmentos fotossintéticos para a cultivar Kottanadan submetida ao DH. Chl <i>a</i> = clorofila <i>a</i> ; Chl <i>b</i> = clorofila <i>b</i> ; Chl total = clorofila total; Chl <i>a/b</i> = razão clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i> ; Carot. = carotenoides.	67
Tabela 5: Avaliação dos parâmetros biométricos da cultivar Kottanadan, após 12 DDH. MFPA (massa de matéria fresca da parte aérea), MSPA (massa de matéria seca da parte aérea), MFR (massa de matéria fresca da raiz), MSR (massa de matéria seca da raiz), VR (volume de raiz) e NF (número de folhas/planta).	70
Tabela 6: Efeitos do déficit hídrico (DH) sobre parâmetros do Teste JIP em folhas de pimenta-do-reino, cultivar Kottanadan.	72
Tabela 7: Rendimentos quânticos para a cultivar Kottanadan, após 12 DDH.	75
CAPÍTULO 3 - Efeito do silício, fosfito e quitosana sobre os componentes epidemiológicos da fusariose na pimenta-do-reino.	95
Tabela 1: Escala de notas para avaliação da fusariose em <i>Piper nigrum</i> , causada por <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	104
Tabela 2: Efeito do Silício, Fosfito e Quitosana, preventivo e curativo, na severidade de <i>F. solani</i> em pimenta-do-reino.	110
Tabela 3: Índice de infecção da fusariose (<i>F. solani</i> f.sp. <i>piperis</i>) em duas cultivares de <i>Piper nigrum</i> (Kottanadan e Bragantina), e reação à doença.	113
CAPÍTULO 4: Biometria da pimenta-do-reino inoculada com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e suplementada com Silício, Fosfito e Quitosana.	134
Tabela 1: Escala de notas para avaliação da fusariose em <i>Piper nigrum</i> , causada por <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	143

CAPÍTULO 5 - Influência de Silício, Fosfito e Quitosana na fluorescência da clorofila a, pigmentos fotossintetizantes e trocas gasosas em plantas de pimenta-do-reino inoculadas com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	166
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A	Fotossíntese líquida
A/Ci	Eficiência da Carboxilação
A/Ci	Eficiência da Carboxilação
A/g_s	Eficiência intrínseca do uso da água
AACPD	Área abaixo da curva de progresso da doença
AACPDI	Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência
AACPDS	Área abaixo da curva de progresso da doença para severidade
ABS/RC	Fluxo específico de absorção de energia por centro de reação
BDA	Batata dextrose ágar
BRA	Bragantina
Carot.	Carotenóide
Chl <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
Chl <i>a/b</i>	Razão Clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i>
Chl <i>b</i>	Clorofila <i>b</i>
Chl total	Clorofila total
Ci	Concentração interna de CO ₂
CML	Coleção Micológica de Lavras
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
CPA	Comprimento da parte aérea
CR	Centro de reação
CRZ	Comprimento da raiz
CT	Comprimento total
cv.	Cultivar
cvs.	Cultivares
DAI	Dias após inoculação
DBC	Delineamento em blocos casualizados
DC	Diâmetro do coleto
DDH	Dias de déficit hídrico
DH	Déficit hídrico
DI₀/RC	Fluxo específico de dissipação de energia por centro de reação
E	Taxa de transpiração

ET₀/RC	Fluxo específico de transporte de energia por centro de reação
F₀	Fluorescência inicial
F₀/F_m	produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII
Fos	Fosfito
Fos-C	Fosfito curativo
Fos-P	Fosfito preventivo
FSI	Fotossistema I
FSII	Fotossistema II
F_v/F_m	Rendimento quântico máximo do fotossistema II
F_v/F₀	Eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII
gs	Condutância estomática
ID	Incidência da doença
IDO	Índice de infecção da doença (Índice de McKinney)
KOT	Kottanadan
MFPA	Massa de matéria fresca da parte aérea
MFR	Massa de matéria fresca da raiz
MFT	Massa de matéria fresca total
MSPA	Massa de matéria seca da parte aérea
MSR	Massa de matéria seca da raiz
MST	Massa de matéria seca total
NF	Número de folhas
p	Probabilidade (%)
PI	Período de incubação
PI_{Total}	Índice de desempenho total
Q_A	Quinona A
Qui	Quitossana
Qui-C	Quitossana curativo
Qui-P	Quitossana preventivo
r	Correlação de Pearson
R	Taxa de progresso da doença
Si	Silício
Si-C	Silício curativo
Si-P	Silício preventivo
TR₀/RC	Fluxo específico de captura de energia por centro de reação

δR_0	Probabilidade com que um elétron é captado do intersistema e transferido para redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI
ϕE_0	Rendimento quântico para o transporte de elétrons no FSII
ϕR_0	Rendimento quântico para redução dos aceptores de elétrons no lado acceptor do FSI

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	24
2. OBJETIVO GERAL	25
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
5.1. <i>Espécie Botânica</i>	27
5.2. <i>Cultivares</i>	29
5.3. <i>Importância econômica, rendimento e produção</i>	30
5.4. <i>Fusariose e sua importância na pimenta-do-reino</i>	32
5.5. <i>Fusarium solani</i>	33
5.6- <i>Sintomatologia e Epidemiologia</i>	34
5.7. <i>Controle da doença</i>	36
5.8. <i>Estresse Abiótico e Biótico</i>	36
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
CAPÍTULO 1 – ARTIGO PUBLICADO - Evaluation of <i>in vitro</i> inhibition of mycelial growth of <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> by different products in Brazil	46
CAPÍTULO 2 – Respostas fisiológicas e biométricas de plantas de pimenta-do-reino submetidas ao déficit hídrico	54
RESUMO	55
ABSTRACT.....	57
1. INTRODUÇÃO.....	58
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
2.1. <i>Material vegetal e cultivo</i>	60
2.2. <i>Tratamento de Déficit Hídrico (DH)</i>	60
2.3. <i>Conteúdo Relativo de Água (CRA)</i>	61
2.4. <i>Pigmentos fotossintéticos</i>	61
2.5. <i>Parâmetros Biométricos</i>	62
2.6. <i>Fluorescência da clorofila a</i>	62
2.7. <i>Delineamento experimental</i>	63
3. RESULTADOS	65
3.1. <i>Conteúdo Relativo de Água (CRA)</i>	65
3.2. <i>Pigmentos Fotossintetizantes</i>	66
3.3. <i>Parâmetros Biométricos</i>	68
3.4. <i>Fluorescência da Clorofila a</i>	70
3.5. <i>Índice de desempenho: PI_{Total}</i>	72
3.6. <i>Eficiências quânticas ou rendimentos</i>	73

4. DISCUSSÃO.....	76
4.1. Conteúdo Relativo de Água (CRA).....	76
4.2. Pigmentos fotossintetizantes.....	76
4.3. Parâmetros Biométricos.....	78
4.4. Parâmetros técnicos do Teste-Jip e fluxos específicos por centro de reação.....	80
4.5. Índice de desempenho: PI_{Total}	83
4.6. Eficiências quânticas ou rendimentos.....	84
5. CONCLUSÕES.....	87
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
CAPÍTULO 3 - Efeito do Silício, Fosfito e Quitosana sobre os componentes epidemiológicos da fusariose na pimenta-do-reino.....	95
RESUMO.....	96
ABSTRACT.....	97
1. INTRODUÇÃO.....	98
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	102
2.1. Material vegetal e cultivo.....	102
2.2. Tratamento do solo.....	102
2.3. Produtos alternativos de controle da fusariose.....	103
2.4. Material biológico e cultivo.....	103
2.5. Suspensão de esporos.....	104
2.6. Inoculação dos vasos.....	104
2.7. Curva de progresso da doença e parâmetros relacionados.....	104
2.8. Delineamento experimental.....	106
3. RESULTADOS.....	107
3.1. Curvas de progresso da doença.....	107
3.2. Incidência e Severidade da doença.....	108
3.3. Área abaixo da curva da doença (AACPD).....	110
3.4. Taxa de progresso da doença (R) e período de incubação (PI).....	111
3.5. Índice de infecção da doença (Índice de McKinney).....	113
4. DISCUSSÃO.....	114
4.1. Incidência e Severidade da doença e AACPDs.....	115
4.2. Taxa de progresso da doença (R) e período de incubação (PI).....	120
4.3. Índice de infecção de McKinney (IDO) e classe de reação à doença.....	121
5. CONCLUSÕES.....	124
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125
CAPÍTULO 4 – Biometria da pimenta-do-reino inoculada com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i> e suplementada com Silício, Fosfito e Quitosana.....	134
RESUMO.....	135
ABSTRACT.....	136

1. INTRODUÇÃO.....	137
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	141
2.1. Material vegetal e cultivo	141
2.2. Tratamento do solo.....	141
2.3. Produtos alternativos de controle da fusariose.....	142
2.4. Material biológico e cultivo	142
2.5. Suspensão de esporos	143
2.6. Inoculação dos vasos.....	143
2.7. Parâmetros Biométricos	143
2.8. Delineamento experimental.....	144
3. RESULTADOS	146
4. DISCUSSÃO.....	152
5. CONCLUSÕES.....	157
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
CAPÍTULO 5 - Influência de Silício, Fosfito e Quitosana na fluorescência da clorofila <i>a</i> , pigmentos fotossintetizantes e trocas gasosas em plantas de pimenta-do-reino inoculadas com <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	166
RESUMO	167
ABSTRACT.....	169
1. INTRODUÇÃO.....	171
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	173
2.1. Material vegetal e cultivo	173
2.2. Tratamento do solo.....	173
2.3. Produtos alternativos de controle da fusariose.....	174
2.4. Material biológico e cultivo	174
2.5. Suspensão de esporos	174
2.6. Inoculação dos vasos.....	175
2.7. Determinação do teor relativo de clorofila	175
2.8. Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	175
2.9. Determinação dos parâmetros de trocas gasosas	176
2.10. Delineamento experimental.....	176
3. RESULTADOS	178
3.1. Determinação do teor relativo de clorofila	178
3.2. Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	180
3.3. Determinação dos parâmetros de trocas gasosas	185
4. DISCUSSÃO.....	187
4.1. Determinação do teor relativo de clorofila	187
4.2. Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	188
4.3. Determinação dos parâmetros de trocas gasosas	191

5. CONCLUSÕES.....	194
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	195
CONCLUSÕES GERAIS.....	202
CONSIDERAÇÕES FINAIS	203
ANEXOS	205

1. INTRODUÇÃO GERAL

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), originária da Índia, é uma das especiarias mais importantes e utilizadas no mundo. Desde o ano de 2000, é cultivada em escala comercial em 26 países, principalmente a Indonésia, Malásia, Brasil, Vietnã, China e Tailândia (RAVINDRAN, 2000).

A pimenta-do-reino foi introduzida no Brasil por colonos portugueses no século XVII, ficando restrita aos estados do litoral brasileiro. Entretanto, o cultivo comercial apenas se estabeleceu após a introdução da cultivar Cingapura por imigrantes japoneses, em 1933 no município de Tomé-Açu - PA, onde teve início a produção comercial, principalmente de pimenta preta e pimenta branca. Por volta de 1950, os japoneses e os brasileiros introduziram o sistema de cultivo intensivo praticado na Malásia, tornando o Brasil autossuficiente na produção da cultura (DUARTE e ALBUQUERQUE, 2005). Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de pimenta-do-reino e o Espírito Santo é o primeiro colocado entre os estados brasileiros, com uma produção anual em torno de 37 mil toneladas do grão (IBGE, 2017).

Apesar da importância da pipericultura no cenário regional, nacional e internacional, conhecimentos que garantam a produção sustentável e econômica da cultura ainda são escassos (SILVA et al. 2011). A fusariose, também conhecida como podridão do pé e podridão das raízes, de ocorrência restrita ao Brasil, é causada pelo fungo hemibiotrófico *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (TRINDADE e POLTRONIERI, 1997; DUARTE et al., 2005). Como consequência da infecção fúngica, em áreas de ocorrência da doença, o ciclo produtivo da cultura foi alterado de 12 para 5 a 6 anos (LEMOS et al., 2011). Porém, a fusariose, doença que inviabiliza o cultivo da pimenta nas lavouras infestadas, ainda carece de estudo sobre cultivares resistentes, métodos alternativos de controle e manejo integrado.

Por conseguinte, a fisiologia da pimenta-do-reino tem sido pouco estudada e, portanto, pesquisas que investiguem as vias metabólicas que conduzem ao cultivo e à produção de qualidade da cultura assumem grande importância no cenário mundial. A fisiologia do estresse também é outra área de escasso conhecimento (RAVINDRAN, 2000). A identificação de parâmetros bioquímicos e/ou fisiológicos ou indicadores de resistência/tolerância à diversos tipos de estresses bióticos e abióticos auxiliam na

obtenção de cultivares resistentes/tolerantes, visando alta produtividade (THANKARNANI et al., 2003).

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resistência de cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) ao estresse abiótico (déficit hídrico) e biótico (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*), visando caracterização do comportamento fisiológico das plantas, acompanhamento da interação planta-patógeno e eficiência de produtos alternativos no controle da fusariose.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar a eficiência dos produtos alternativos (silício-Si, fosfito-Fos e quitosana-Qui) no crescimento micelial do *F. solani*, em condições *in vitro*;
- Comparar o desempenho fisiológico das cultivares de pimenta-do-reino Kottanadan-KOT e Bragantina-BRA ao déficit hídrico;
- Quantificar a eficiência dos produtos alternativos (silício-Si, fosfito-Fos e quitosana-Qui) no controle da fusariose em plantas de pimenta-do-reino cultivadas em condição de viveiro;
- Avaliar as alterações no desempenho fisiológico (pigmentos fotossintéticos, fluorescência da clorofila *a*, assimilação de carbono, trocas gasosas e biometria) em duas cultivares de pimenta-do-reino, inoculados com *F. solani*;
- Comparar o efeito preventivo e curativo dos produtos alternativos utilizados para o controle da fusariose.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DUARTE M.L.R.; ALBUQUERQUE F.C. Sistema de Produção da Pimenteira-do-reino, **Embrapa Amazônia Oriental**, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/paginas/importancia.htm>
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 1-83, 2017.
- LEMO, O.F.; POLTRONIERI, M.C; MENEZES, I.C.; MONDIM, M. Conservação e melhoramento genético da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) em associação com as técnicas de biotecnologia. Belém, Pará: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2011.
- RAVINDRAN, P.N. Introduction of Black Pepper. In: RAVINDRAN, P.N. (Ed.) **Medicinal and Aromatic Plants: Black Pepper, *Piper nigrum***. India: Indian Institute of Spices Research, v. 13, cap. 4, p. 163-224, 2000.
- SILVA, S.O.; NETO, A.P.D.; SILVA, M.B. Pimenta-do-reino: importância da defesa fitossanitária para a sustentabilidade da atividade na região norte do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 1, n. 1, p. 88-92, 2011.
- THANKARNANI, C.K.; ASHOKAN, B.C.K.; MARIKUNNU, P.O. Water stress induced changes in enzyme activities and lipid peroxidation in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v. 25, p. 646–50, 2003.
- TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, L.S. Doenças da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BARGAMIN FILHO, A. *et al.* (Eds). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 579-593, 1997.

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1. *Espécie Botânica*

O gênero *Piper* pertence à classe das Eudicotiledôneas, ordem *Piperales* e família *Piperaceae* (EMBRAPA, 2004). A posição filogenética da família *Piperaceae* está entre um conjunto diversificado de eudicotiledôneas denominado “paleoervas”. São plantas que se assemelham à monocotiledôneas em certas características vegetativas, como, por exemplo, estípula adaxial e feixes vasculares dispersos (DONOGHUE e DOYLE, 1989; LOCONTE e STEVENSON, 1991). Em *Piperaceae*, encontram-se células secretoras com óleo translúcido, que ocorrem tanto nas folhas como nas demais partes aéreas de todos os membros desta família. Os elementos secretores são também representados por canais ou células de mucilagem nos tecidos das espécies de *Piper* (DASGUPTA e DATTA, 1980).

Esse gênero é mais diversificado nos trópicos americanos do que nos trópicos asiáticos (cerca de 700 vs. 300 espécies, respectivamente). Poucas espécies são encontradas nas ilhas do Pacífico Sul (cerca de 40 spp.) e na África (apenas duas espécies nativas). São abundantes em florestas de baixa e média altitude, raramente chegando a 2.500 m de altitude nos Andes tropicais. Os centros de diversificação de espécies de *Piper* incluem o Sudeste Asiático, o sul do México, os Andes, o Chocó, a Amazônia e a Mata Atlântica do Brasil (DYER e PALMER, 2004)

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), nativa das florestas úmidas da Costa do Malabar no sudoeste da Índia (NELSON e CANNON-EGGER, 2011), é uma planta perene, semi-lenhosa e trepadeira. O caule é formado por duas partes distintas: a haste central que possui raízes adventícias, grampiformes, que se originam nos nós e aderem livremente no suporte (ramo ortotrópico) e as hastes laterais são desprovidas de raízes aderentes com gemas originando as flores e frutos (chamados ramos de frutificação ou plagiotrópicos). As folhas são pecioladas e localizadas à altura dos nós existentes nos ramos. O sistema radicular das plantas oriundas de propagação seminífera possui 3 a 6 raízes laterais fasciculadas, localizadas, na maior parte, numa profundidade de até 30 cm, num raio de aproximadamente 60 cm em torno da planta e uma raiz central, que ajuda a fixar a planta no solo. A inflorescência é uma espiga que pode atingir 10 a 12 cm, composta de floretas aperiantadas. A fecundação normalmente se dá entre flores diferentes de uma mesma espiga (geitonogamia). O fruto é uma drupa séssil, indeiscente, proveniente de um único

óvulo. Quando maduro, o fruto possui de 4 a 6 mm de diâmetro e a casca adquire coloração avermelhada. A semente apresenta o endosperma esbranquiçado (Figura 1). No Pará, a maturação ocorre no período de junho a setembro e no sul da Bahia e Espírito Santo há dois períodos de maturação: de março a abril e outubro a novembro. O intervalo entre floração e maturação é de seis meses (EMBRAPA, 2004).

A *Piper nigrum* é considerada como a única especiaria cujos frutos podem ser comercializados em 4 diferentes versões de grãos: preta - grãos em sua maioria maduros, debulhados das espigas e secos ao sol ou em secadoras; branca - grãos debulhados, secos e descascados; verde - grãos debulhados ainda imaturos; e vermelha – grãos amadurecidos e debulhados), embora a sua forma mais comum de comercialização seja a preta (EMBRAPA, 2004; PISSINATE, 2006).

Investigações fitoquímicas realizadas ao longo das últimas décadas em pimenta-do-reino revelaram uma ampla variedade de metabólitos especiais presentes nesta espécie, os quais se distribuem em diferentes classes de compostos: amidas/alcalóides, propenilfenóis, lignanas, neolignanana, terpenos, flavonas e miscelâneas de compostos, dos quais alguns são encontrados apenas nesta espécie (PARMAR et al., 1997).



Figura 1: Pimenta-do-reino: ramo de floração; 1- parte total do cacho; 2- ovário, com estame; 3- estame; 4- fruto jovem, ainda verde, seção longitudinal; 5, 6- fruto maduro; 7 fruto sem casca; 8- fruto sem casca, secção longitudinal. Criação: 31 de Dezembro de 1896. Fonte: domínio público.

5.2. Cultivares

A família *Piperaceae* possui larga distribuição no mundo, apresentando cerca de 10 a 20 gêneros com aproximadamente 2.515 espécies, que estão disseminadas em todas as regiões tropicais (MACHADO, 2007). No Brasil, essa família está representada por cinco gêneros: *Piper*, *Peperomia*, *Potomorphe*, *Ottonia* e *Sarcorhachis* (BARROSO et al., 2002; SOUZA e LORENZI, 2005). O gênero *Piper* apresenta um número próximo a 700 espécies, das quais mais de 170 ocorrem nos estados do Pará, Espírito Santo, Bahia, Maranhão, Ceará e Paraíba (YUNCKER, 1972; PARMAR, 1997; IBGE, 2013). A espécie mais importante desse gênero é *Piper nigrum* L. (Pimenta-do-Reino), que vem sendo estudada desde 1819 (SENGUPTA e RAY, 1987). É uma das mais valorizadas condimentares do mundo, com grande valor econômico, permitindo que a atividade desenvolvida pelos pipericultores seja altamente rentável (LIMA et al., 2010).

A espécie apresenta centenas de cultivares catalogadas na Índia (MATHEW et al. 2001). No Brasil, as sete cultivares recomendadas para o plantio são (POLTRONIERI e LEMOS, 2014):

1- *Apra*: folhas largas com 8,88 cm de largura e comprimento médio de 13,8 cm, espigas longas com comprimento médio de 12 cm, contendo várias fileiras de frutos graúdos (0,53 cm de diâmetro). Quando cultivada a pleno sol, a planta, no terceiro ano, apresenta forma cilíndrica, com ramos de crescimento contendo raízes adventícias bem desenvolvidas que saem da região dos nós. Os brotos jovens apresentam coloração violeta. As inflorescências apresentam floretas 100% hermafroditas.

2- *Bragantina*: uma seleção clonal do híbrido “Panniyur-1” (PRADEEP KUMAR et al., 2003), denominação da cultivar original na Índia, apresenta plantas com folhas largas, em forma de coração, espigas muito longas, com comprimento médio de 14 cm, flores 100% hermafroditas que favorecem o enchimento das espigas, frutos graúdos e coloração verde-claro dos brotos novos dos ramos de crescimento.

3- *Cingapura*: conhecida como “Kutching” na Índia. Após três anos do plantio, apresenta plantas com formato cilíndrico, folhas pequenas e estreitas, espigas curtas, comprimento médio de 7 cm, frutos de tamanho médio. Nos dois primeiros anos apresenta bom desenvolvimento de ramos de crescimento que se caracterizam por apresentar brotações de cor roxa.

4- *Guajarina*: seleção clonal da cultivar indiana “Arakulam Munda”. Juntamente com as cultivares Bragantina e Cingapura, chegou ao Brasil em 1982. As plantas adultas

apresentam formato cilíndrico, folhas alongadas e de tamanho médio, espigas longas, comprimento médio de 12 cm, com 90% de flores hermafroditas, bom enchimento de frutos nas espigas, frutos esféricos e graúdos. Nos ramos ortotrópicos apresenta broto de coloração violeta.

5- *Iaçará*: Aos três anos após o plantio, as plantas bem formadas apresentam formato cilíndrico. As brotações dos ramos ortotrópicos são de tonalidade violeta. As folhas são estreitas, de tamanho médio. As flores são hermafroditas em sua maioria. As espigas apresentam comprimento médio de 9 cm, repletos de frutos quando cultivada em condições ambientais favoráveis. Apresenta casca dos frutos espessa.

6- *Kottanadan*: plantas jovens, cultivadas a pleno sol, apresentam formato cilíndrico, ramos ortotrópicos vigorosos emitindo raízes de sustentação bem desenvolvidas. Plantas adultas, após sofrerem podas nos ramos ortotrópicos, demoram a lançar novas brotações. As brotações apresentam tonalidade violeta. As folhas são largas, de tamanho médio. As espigas apresentam comprimento médio de 13 cm, com boa formação de frutos e enchimento de espiga. Os frutos apresentam-se em forma esférica de tamanho médio.

7- *Kuthiiravally*: folhas largas e compridas, espigas longas com comprimento médio de 12 cm, com extremidade recurvada repleta de frutos graúdos (0,49 mm de diâmetro). Em cultivo a pleno sol, a partir do terceiro ano, a planta apresenta arquitetura em formato cilíndrico, com ramos de crescimento contendo raízes adventícias bem desenvolvidas saindo da região dos nós. Os brotos dos ramos de crescimento são de coloração violeta.

Duarte (2001) relata que a cultivar Guajarina é superior a Bragantina em relação ao estresse hídrico e à qualidade dos grãos e que todas as cultivares brasileiras são bissexuais e exibem variabilidade quanto ao comprimento, tamanho, fixação, número de espigas ou bagas, além dos caracteres morfológicos.

5.3. Importância econômica, rendimento e produção

A pimenta-do-reino era um dos bens mais procurados pelos nobres europeus, chegando a ser utilizada como moeda até mesmo no pagamento de impostos. Depois de dominarem o seu cultivo, a pimenta-do-reino foi se tornando mais acessível e se difundindo, o que motivava muitos estudiosos da época a tentar descobrir o caminho das Índias, culminando em grandes viagens que ultrapassavam fronteiras oceânicas (ALUMIAR, 2013).

A pimenta-do-reino chegou ao Brasil através dos colonos portugueses no século XVII, ficando restrita aos estados do litoral brasileiro. Entretanto, o cultivo racional apenas se estabeleceu após a introdução da cultivar Cingapura por imigrantes japoneses, em 1933 no município de Tomé-Açu - PA, onde teve início a produção comercial, principalmente de pimenta preta e pimenta branca. Por volta de 1950, os japoneses e os brasileiros introduziram o sistema de cultivo intensivo praticado na Malásia, tornando o Brasil auto-suficiente na produção desta cultura (DUARTE e ALBUQUERQUE, 2005).

Comparativamente ao Vietnã, Indonésia, Índia e Malásia, o Brasil oscila entre o terceiro e quarto maior produtor mundial da especiaria. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), a área cultivada no Brasil com pimenta-do-reino foi de aproximadamente 21,5 mil hectares e a produção atingiu cerca de 48 mil toneladas em 2015. A estimativa da produção para 2017 é alcançar 71 mil toneladas. A área plantada, a área colhida e o rendimento médio apresentam crescimento de 56,8%, 9,8% e 10,4%, respectivamente (IBGE 2017).

O crescimento da produção de pimenta-do-reino no País alcança 29,8% em relação ao ano anterior, havendo destaque também para a produção no Espírito Santo, com avanço de 146,6%. O rendimento médio no estado deve crescer 80,9% e a área a ser colhida 36,3%. Os aumentos refletiram os dados do Espírito Santo, segundo maior produtor do País, com participação de 44,8% no total a ser produzido, tendo o Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias (GCEA/ES) aumentado a área plantada da cultura no Estado em 82,0%. Atualmente, o Estado do Espírito Santo possui, aproximadamente, 14 mil hectares de área plantada de pimenta-do-reino, sendo 9.481 hectares em produção e o restante em formação. O rendimento médio das lavouras está em torno de 4 mil kg/hectare. A produção até o mês de abril de 2017 foi de, aproximadamente, 36 mil toneladas de pimenta-do-reino (IBGE, 2017). É o terceiro produto que mais gera divisas no agronegócio capixaba (SEAG, 2013). Os plantios se concentram no Norte do Estado, tendo como destaque o município de São Mateus, com mais de 65% da área cultivada e da produção. De acordo com a Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca (SEAG, 2013), São Mateus produz, sozinho, quase 8% de toda produção brasileira. Todos os outros municípios, a partir do segundo, estão localizados no Pará, destacando-se Igarapé-Açu, Tomé-Açu e Baião, entre outros.

O Brasil consome apenas 10% do total de pimenta-do-reino que produz, enquanto a Índia consome cerca de 50% de sua produção (BARBOSA, 1998). Assim, a maior parte da

produção brasileira é exportada principalmente para os Estados Unidos, México, Argentina e Europa (IBGE, 2013).

5.4. Fusariose e sua importância na pimenta-do-reino

Apesar da importância da pipericultura no cenário regional, nacional e internacional, a atividade, frequentemente é relegada ao esquecimento. A falta de pesquisas para melhoramento, manejo e combate às doenças revelam a falta de conhecimento científico sobre a cultura. Assim, mesmo doenças tão devastadoras como a Fusariose não são totalmente estudadas, e as técnicas de prevenção e combate a esta e outras doenças não são eficientes (SILVA et al. 2011). Como consequência, o ciclo produtivo da cultura, que durava, em média, 12 anos foi alterado, tornando-se mais curto, com uma média de cinco a seis anos de sobrevivência em área de ocorrência da doença (LEMOS et al., 2011). A severidade das doenças causadas por *Fusarium* spp. está condicionada a fatores favoráveis tais como temperatura, umidade, plantio em solos arenosos, presença de nematóides, ocorrência de pH baixo e adubação com baixo teor de potássio, além da falta de resistência do hospedeiro (SANTOS, 2008).

O centro de origem da pimenta-do-reino é a Índia, onde ocorre maior dispersão e variação genética dessa espécie. No entanto, o patógeno causador da fusariose não ocorre no Hemisfério Oriental (WAARD, 1980; WAARD e ZAUBIN, 1984), o que não propicia pesquisas visando ao controle dessa doença. Por sua vez, no Brasil, sua reprodução (propagação clonal de base genética comum) originou cultivos homogêneos geneticamente e, conseqüentemente, vulneráveis à ação desse microrganismo (POLTRONIERI et al., 1999).

A introdução da planta no Brasil, ocorrida em 1933 no estado do Pará, bem como sua exploração comercial, levou ao monocultivo da cultura, o que permitiu o surgimento de várias doenças (ALBUQUERQUE e DUARTE, 1991). A podridão-das-raízes, conhecida como fusariose, é a principal doença da pimenta-do-reino de ocorrência restrita ao Brasil (KIMATI et al., 1997; TRINDADE e POLTRONIERI, 1997; TREMACOLDI, 2010). A doença é responsável por dizimar lavouras inteiras. Detectada primeiramente no Estado do Pará em 1957, somente em 1976, o agente etiológico foi identificado como *Fusarium solani* f.sp. *piperis* (ALBUQUERQUE e FERRAZ, 1976; ALBUQUERQUE e DUARTE, 1991). A fusariose está, atualmente, disseminada em todos os estados

brasileiros produtores de pimenta-do-reino. Desde a constatação do patógeno no Pará, mais de 10 milhões de pimenteiras morrem por ano (DUARTE et al., 2005).

5.5. *Fusarium solani*

O agente causal da fusariose é o *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. emend. Snyd. & Hans. f. sp. *piperis*, Albuquerque (Telemorfo *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuq.). Na forma teleomórfica (fase sexuada), o fungo produz peritécios redondos ou piriformes, avermelhados, com superfície rugosa de consistência gelatinosa e ascos contendo oito ascósporos. Na fase anamórfica (fase assexuada), o fungo produz três tipos de esporos: macroconídios, microconídios e conídios intermediários. A partir do espessamento da parede celular das hifas e células de macroconídios, realiza-se a produção de clamidósporos (DUARTE et al., 2005). Os macroconídios são conídios hialinos e septados, produzidos em esporodóquios, que são as estruturas de frutificação do fungo na fase assexuada. Algumas espécies produzem, também, conídios em micélio aéreo, denominados de microconídios. A produção de macro e microconídios é variável, em função das condições do ambiente. *Fusarium* spp. produz ainda os clamidósporos, que são as estruturas de resistência deste fungo (HAWKSWORTH et al., 1995; WINDELS, 1992). A fase teleomórfica do fungo é conhecida e pode ocorrer nos gêneros *Gibberella* e *Nectria* (WINDELS, 1992). Em meio de cultura BDA, o fungo forma colônias de cor branca-acinzentada, com áreas de cor verde-limão, que são os locais de maior concentração de conídios. Os microconídios são cilíndricos, asseptados ou unisseptados e produzidos em fiálides laterais longas ou em conidióforos em forma de cacho. Os macroconídios apresentam de cinco a nove septos e formato fusiforme. Os clamidósporos são globosos e podem sobreviver no solo por vários anos (FISCHER et al., 2005) (ANEXO 1)

O complexo de espécies de *Fusarium solani* - FSSC é um importante componente da microbiologia mundial. O grande número de espécies pertencentes a este gênero evidencia a diversidade de habitats nos quais elas podem sobreviver. Dentro de cada espécie de *Fusarium* pode haver ainda uma subdivisão ou *formae speciales* (EDEL et al., 1997). O conceito *formae speciales* (SNYDER e HANSEN, 1953) é usado para reconhecer isolados patogênicos que foram morfologicamente semelhantes a isolados saprofitos da mesma espécie, mas que diferenciam em sua habilidade para parasitar hospedeiros específicos. ALBUQUERQUE e FERRAZ (1976) testaram a especificidade de isolados patogênicos de *F. solani* à pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), utilizando feijão (*Phaseolus*

vulgaris), ervilha (*Pisum sativum*), abóbora (*Cucurbita* sp.) e batata (*Solanum tuberosum*) e não obtiveram sintomas de podridão induzidos pela presença do fungo. Os autores, assim comprovaram a especificidade dos isolados patogênicos testados à *P. nigrum*, atribuindo-lhes a denominação *formae specialis piperis*.

Existem ainda espécies do FSSC que possuem uma variedade de enzimas, as quais podem contribuir para a virulência ou patogenicidade junto à planta hospedeira. Elas incluem as cutinases, as proteases e pectinases para atacar as barreiras da planta, a pisinase demetilase, para detoxificar as fitoalexinas e enzimas biossintéticas como algumas toxinas (GERHOLD et al. 1993; ZHANG et al., 2006).

5.6- Sintomatologia e Epidemiologia

A doença pode iniciar a partir das raízes ou da parte aérea. Quando iniciada pelas raízes, as folhas assumem coloração amarelada e tornam-se flácidas, ocorrendo a queda prematura. Os internódios também amarelecem e caem e, à medida que a doença evolui, ocorre o secamento total da planta. O sistema radicular é reduzido e se torna necrótico. Esta necrose pode evoluir até 30 cm acima do solo, a partir da base da planta (VENTURA e COSTA, 2004; TREMACOLDI, 2010). Na fase de produção, a doença promove a queda dos frutos. No entanto, quando a doença se inicia na parte aérea, esta é caracterizada pela presença de ramos amarelados em uma planta bem vigorosa. Examinando-se o ramo plagiotrópico até o ponto de inserção no ramo ortotrópico, observa-se uma lesão escura na região do nó. Com a evolução da doença, é observado o secamento na parte superior e inferior da planta (VENTURA e COSTA, 2004; SILVA et al., 2011) (ANEXO 2).

O efeito patogênico de *F. solani* é devido à secreção de uma ampla gama de enzimas hidrolíticas envolvidas na penetração e colonização dos tecidos da planta hospedeira durante a infecção (WALTON, 1994). Segundo Annis e Goodwin (1997), enzimas de degradação da parede celular podem provocar diferentes reações patogênicas em cada interação planta-patógeno. Também foi proposto que a presença de depolimerases na parede celular microbiana pode ser tão importante para a planta, atuando como sinais ativadores de vários processos fisiológicos, como a indução de respostas de defesa vegetal, como também para o próprio agente patogênico, quando agem como fatores de virulência (WALTON, 1994).

Os fungos patogênicos incluem um grande e heterogêneo grupo de organismos que ocupam importante posição tanto na agricultura como nas populações naturais (BURDON

& SILK, 1997). Além disso, exercem influência na evolução de seus hospedeiros, adaptando-se, por sua vez, às mudanças do genótipo hospedeiro para aumentar as situações de íntima coevolução (PYROZINSKI & HAWKSWORTH, 1988).

Uma vez dentro do sistema radicular, os fungos são inicialmente limitados à raiz ou à base da planta e, em determinado momento, iniciam a disseminação para o sistema vascular. A combinação do fungo crescendo no sistema vascular e os efeitos de toxinas nas plantas variam consideravelmente. Tais efeitos fisiológicos podem incluir mudanças na fixação de CO₂ e respiração, alterações na permeabilidade da membrana e até mesmo degradação das membranas celulares e pigmentos, síntese de proteínas, alteração do potencial hídrico e absorção de nutrientes e água, causando a murcha e morte da planta (SNOEIJERS et al. 2000; WHEELER e RUSH, 2001).

Os patógenos de incidência radicular, como os causadores da fusariose, coevoluiram com as plantas por milhões de anos e estão altamente adaptados ao ambiente subterrâneo em associação com o hospedeiro (BRUEHL, 1987). Este fato, aliado a sua sobrevivência por períodos muito longos no solo e à falta de cultivares comerciais com resistência satisfatória, torna o seu controle difícil. Além disso, devido à infecção inicial e ao desenvolvimento subsequente das doenças ocorrerem, na maioria das vezes, abaixo do nível do solo, patógenos radiculares são comparativamente inacessíveis à manipulação direta do homem e as doenças frequentemente não são notadas até que atinjam estádios bem avançados, quando as opções de controle tornam-se limitadas (WHEELER & RUSH, 2001).

Entretanto, o modo de penetração de *F. solani* f. sp *piperis* ainda não está completamente definido. De acordo com Xing e Westphal (2006), provavelmente a penetração ocorre de modo direto, ou seja, durante a germinação de clamidósporos ou de macroconídios, que entram em contato com o sistema radicular das plantas como ocorre no patossistema *Fusarium* x *Glycine max* (soja).

Essa interação entre planta e patógeno é de extremo interesse para a humanidade, já que grande parte da economia mundial baseia-se na utilização de espécies vegetais, as quais podem sofrer sérios danos em virtude do ataque de patógenos (BARBIERI e CARVALHO, 2001).

5.7. Controle da doença

No caso da pimenta-do-reino, algumas medidas que previnem a entrada do patógeno na área de plantio têm dado alguma contribuição reduzindo a disseminação da doença (SILVA et al., 2011). Dentre estas, o não reaproveitamento de tutores provenientes de áreas onde a doença tenha ocorrido é uma prática indicada. Recomenda-se, também, que áreas com histórico de ocorrência da doença não sejam utilizadas para um plantio antes de 5 a 8 anos após o último plantio (VENTURA e COSTA, 2004). O uso de cobertura morta no período de menor precipitação e o uso de adubação orgânica também tem sido sugerido. Recomenda-se, também, evitar o trânsito de máquinas agrícolas provenientes de áreas infectadas. Segundo Ventura e Costa (2004), a poda, seguida da eliminação do material da lavoura e da aplicação de fungicida constituem ações de controle do patógeno em fase inicial de infecção. Entretanto, estas medidas, de caráter preventivo, não eliminam em definitivo a disseminação do *Fusarium*.

Até o momento, não há tratamento químico eficaz contra o *Fusarium*, nem tampouco cultivares de pimenta-do-reino comerciais resistentes à fusariose (TREMACOLDI, 2010). Entretanto, métodos ou produtos alternativos têm sido parcialmente testados visando o aproveitamento de suas atividades antibióticas (fungicidas e fungistáticas) no controle de doenças de plantas. A busca por métodos/produtos alternativos de manejo das doenças, em substituição aos métodos convencionais, vem aumentando nos últimos anos, em decorrência dos efeitos nocivos que os defensivos agrícolas provocam ao meio ambiente e à saúde humana. Assim, os estudos para controle da fusariose com uso de métodos alternativos, são concernentes com as estratégias da agricultura moderna e vão em direção aos interesses econômicos e ecológicos.

5.8. Estresse Abiótico e Biótico

De um modo geral, as plantas sofrem exposição contínua a vários tipos de estresses, bióticos e abióticos, em seu ambiente natural. Para sobreviver sob tais condições, as plantas apresentam mecanismos de percepção aos sinais externos, permitindo uma resposta às condições ambientais (FUJITA et al., 2006).

Lambers et al. (2008), definem três escalas temporais na resposta das plantas ao estresse:

Resposta ao estresse: é o efeito imediato, em geral de caráter prejudicial. Ela ocorre em uma escala de segundos a dias.

Aclimação: é o ajustamento morfológico e fisiológico realizado pela planta (como indivíduo) para compensar um desempenho ruim, após a exposição ao estresse. Ela ocorre em uma escala de dias a semanas.

Adaptação: é a resposta evolutiva que resulta de alterações genéticas nas populações, levando a uma compensação morfológica e fisiológica. Ocorre em uma escala de tempo muito maior do que a da aclimação (geralmente muitas gerações).

O estresse hídrico é considerado um dos mais importantes fatores abióticos que compromete a fotossíntese, o crescimento e produtividade das plantas (BOYER, 1982; LICHTENTHALER, 1998). Estudos recentes sobre a variação climática indicam que as temperaturas médias aumentarão entre 3-5°C nos próximos 50-100 anos, afetando drasticamente os sistemas agrícolas globais (IPCC, 2007). Simultaneamente, podem ocorrer aumento da seca, inundação e ondas de calor (IPCC, 2008; MITTLER e BLUMWALD, 2010). Uma mudança na variabilidade das chuvas e da temperatura pode afetar os rendimentos e a qualidade nutricional das culturas (PORTER e SEMENOV, 2005).

A planta responde ao estresse hídrico por meio de mecanismos adaptativos, que permite ao sistema fotoquímico e bioquímico suportar tal estresse (YORDANOV et al., 2000). A fotossíntese é particularmente sensível, seja por efeitos fotoquímicos, como a deficiência do funcionamento do FSII ou degradação dos tilacóides, seja por problemas bioquímicos como a desativação da rubisco ou de outras enzimas do ciclo de Calvin (LIMA, 2002; DaMATTA, 2006). Com efeito, os danos desencadeados pelo déficit hídrico podem ser superiores aos danos oriundos de todos os outros fatores bióticos e abióticos em conjunto (LAMBERS et al., 2008). Tais danos estão relacionados a uma complexa rede de mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares (PASSIOURA, 1997).

As alterações morfológicas incluem a redução do tamanho da planta e da folha, abscisão foliar e redução da produtividade. Pode ser também mais complexa, como o aumento do volume do sistema radicular e redução da massa fresca e seca de diferentes partes da planta (parte aérea, caule e raiz) (TORRECILLAS et al., 1996). As raízes atuam como sensor do déficit de água no solo, enviando sinais (ácido abscísico) à parte aérea, detectado pelas células-guardas dos estômatos, mesmo antes de qualquer déficit hídrico ser observado nas folhas (ZHANG e DAVIES, 1990; SALAH e TADIEU, 1997). Essas alterações ocorrem, indiretamente, devido a uma série de mudanças fisiológicas, como redução do conteúdo de água na folha (HETHERINGTON e WOODWARD, 2003; HOSSEINI SALEKDEH et al. 2009), fechamento dos estômatos (ROYER, 2001),

deposição de cera na cutícula (KERSTIENS, 2006), redução da fotossíntese (OUKARROUM et al., 2007) e produção de solutos orgânicos que protegem as plantas de estresses por meio de diferentes rotas metabólicas (BOHNERT e JENSEN, 1996). No entanto, a sensibilidade dos estômatos ao déficit hídrico e a redução da área foliar são mecanismos que limitam a produtividade, uma vez que reduzem a absorção de CO₂ e a interceptação de luz, respectivamente. (LAWLOR e CORNIC, 2002; HENZELL et al., 1975). O fechamento estomático parcial ou total está associado ao potencial hídrico foliar e ao teor de água no solo e resulta em uma diminuição da taxa de transpiração. A redução da concentração intracelular de CO₂, a qual reduz a taxa de assimilação de CO₂, são normalmente observadas no déficit hídrico causando um desequilíbrio entre a atividade fotoquímica do FSII e o requerimento de elétrons para a fotossíntese (MEDRANO et al., 2002; DeELL e TOIVONEN, 2003; HONG-BO, 2008).

No estresse biótico, o ataque constante de fungos, bactérias e vírus sobre as plantas pode causar enormes perdas econômicas na agricultura e também ter um impacto ecológico na natureza. Em um nível molecular, a resistência a doenças exige uma firme comunicação cruzada entre as diferentes vias de sinalização das plantas. O reconhecimento, por receptores do sistema imunológico da planta, de moléculas derivadas dos patógenos, provoca uma cascata de sinais onde algumas organelas exercem funções vitais para determinar reações imunológicas adequadas contra uma variedade de agentes de estresse biótico (KANGASJÄRVI et al., 2012).

Patógenos vasculares afetam os processos fisiológicos das plantas hospedeiras (DALY, 1976). As relações hídricas de plantas doentes podem ser afetadas em função de distúrbios no funcionamento de estômatos, do aumento da resistência ao fluxo e/ou à absorção de água pelas raízes, tornando as plantas hospedeiras mais sensíveis à deficiência hídrica (SYVERTSEN et al., 1980). Além disso, a infecção por patógenos geralmente leva ao desenvolvimento de áreas cloróticas e necróticas e a uma diminuição na produção de fotoassimilados (SCHREIBER et al., 1986; SCHREIBER, 2004), nas trocas gasosas e na fluorescência da clorofila *a* (BERGER et al., 2007). Por outro lado, a planta em contato com microrganismos patogênicos, ativa o fluxo de íons, fosforilação/desfosforilação de proteínas e a produção de moléculas sinalizadoras como ácido salicílico, ácido jasmônico, etileno e espécies reativas de oxigênio (EROS). Isso leva à regulação da expressão gênica e à indução de respostas de defesa, como por exemplo, o fortalecimento da parede celular e o acúmulo de fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (DANGL e JONES, 2001; GARCIA-BRUGGER et al., 2006).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F.C.; FERRAZ, S. Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* e sua patogenicidade à pimenta-do-reino. **Experientia**, v. 22, n. 6, p. 133-151, 1976.
- ALBUQUERQUE, F.C.; DUARTE, M.L.R. Comportamento de cultivares de pimenta-do-reino em áreas de ocorrência de fusariose no Estado do Pará. Belém: **Embrapa-CPATU**, 1991. 40p.
- ALUMIAR. **Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*)**, 2013. Disponível em: <http://www.alumiar.com/saude/50-naturopatia/579-pimentadoreino.html>
- ANNIS, S.L.; GOODWIN, P.H. Recent advances in the molecular genetics of plant cell wall degrading enzymes produced by plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, p. 1-14, 1997.
- BARBIERI, R.; CARVALHO, F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, p. 79–83, 2001.
- BARBOSA, F.B.C. Pesquisa agropecuária na Amazônia brasileira: institucionalização e padrão do financiamento dos investimentos em C&T agrícola: 1976 a 1995. **Dissertação de Mestrado em Administração**, Universidade Federal do Pará – UFPA, 1998. 189 f.
- BARROSO, G.M.; GUIMARÃES, E.F.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; PEIXOTO, A.L. **Sistemática das angiospermas do Brasil**. 2ª edição. Viçosa, MG: UFV, 2002. 307p.
- BERGER, S.; SINHA, A.K.; ROITSCH, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 4019–4026, 2007.
- BOHNERT, H.J.; JENSEN, R.G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. **Trends Biotechnology**, v. 14, p. 89–97, 1996.
- BOYER, J.S. Plant productivity and environment. **Science New Series**, v. 218, p. 443–448, 1982.
- BRUEHL, G.W. **Soilborne Plant Pathogens**. New York: MacMillan, 1987.
- BURDON, J.J.; SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 664-669, 1997.
- DALY, J.M. The carbon balance of diseased plants: changes in respiration, photosynthesis and translocation. In: HEITEFUSS, R.; WILLIAMS, P.H. (Eds.). **Encyclopedia of plant physiology**. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, v. 4: Physiological Plant Pathology, p. 450-479, 1976.

- DAMATTA, F.M.; RAMALHO, J.D.C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 55-81, 2006.
- DANGL, J.L.; JONES, J.D. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. **Nature**, v. 411, p. 826–833, 2001.
- DASGUPTA, A.; DATTA, P.C. Medicinal species of *Piper*, pharmacognostic delimitation. **Quarterly Journal of Crude Drug Research**, v. 18, n. 1, p. 17-25, 1980.
- DeELL, J.R.; TOIVONEN, P.M.A. Use of chlorophyll fluorescence in postharvest quality assessments of fruits and vegetables. In: DeELL J.R.; TIOVONEN, P.M.A. (Eds.). **Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology**. Boston: Kluwer Academic Publishers, p. 201–242, 2003.
- DONOGHUE, M.J.J.A. Phylogenetic analysis of angiosperms and the relationships of Hamamelidae. In CRANE, P.R.; BLACKMORE, S. (Eds.). **Evolution, systematics, and fossil history of the Hamamelidae**. Clarendon Press, Oxford, UK, vol. 1, p. 17–45, 1989
- DUARTE, M.L.R. Development of pepper industry in Brazil. **International Pepper News Bulletein 2001**, p. 13–28, 2001.
- DUARTE M.L.R.; ALBUQUERQUE F.C. Sistema de Produção da Pimenteira-do-reino, **Embrapa Amazônia Oriental**, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/paginas/importancia.htm>
- DUARTE, M.L.R.; ALBUQUERQUE, F.C.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Doenças da Pimenteira-do-Reino (*Piper nigrum* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. *et al.* (Eds.) **Manual de Fitopatologia**. 4ª Edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 507-516, 2005.
- DYER, L.A., PALMER, A.N. Piper: A model genus for studies of evolution, chemical ecology and tropic interactions. **Klumer Academic Publishers**, New York, cap. 7, 2004.
- EDEL, V.; STEINBERG, C.; GAUTHERON, N.; ALABOUVETTE, C. Populations of Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Associated with Roots of Four Plant Species Compared to Soilborne Populations. **Phytopathology**, v. 84, p. 693-697, 1997.
- EMBRAPA - EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Manual Segurança e Qualidade para a Cultura da Pimenta-do-Reino**. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 65 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA, 2004.
- FISCHER, I.H.; KIMATI, H.; REZENDE, J.A.M. Doenças do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). In: KIMATI, H. *et al.* (Ed.) **Manual de fitopatologia**. 4ª edição. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2: Doenças das Plantas Cultivadas, p. 467-474, 2005.
- FUJITA, M.; FUJITA, Y.; NOUTOSHI, Y.; TAKAHASHI, F.; NARUSAKA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Crosstalk between abiotic and

- biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. **Current Opinion Plant Biology**, v. 9, n. 4, p. 436–442, 2006.
- GARCIA-BRUGGER, A.; LAMOTTE, O.; VANDELLE, E.; BOURQUE, S.; LECOURIEUX, D.; POINSSOT, B.; WENDEHENNE, D.; PUGIN, A. Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. **Molecular Plant–Microbe Interactions**, v. 19, p. 711–724, 2006.
- GERHOLD, D.L.; PETTINGER, R. A.J.; HADWIGER, L.A. Characterization of a plant stimulated nuclease from *Fusarium solani*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 43, p. 33–46, 1993.
- HAWKSWORTH, D.L. *et al.* **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi**. New York: CAB International, 1995. 616p.
- HENZELL, R.G.; McCREE, K.J.; VAN BAVEL, C.H.M.; SCHERTZ, K.F. Method for screening sorghum genotypes for stomatal sensitivity to water deficit. **Crop Science**, v. 15, n. 4, p. 516–518, 1975.
- HETHERINGTON, A.M.; WOODWARD, F.I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, New York, v. 424, n. 24, p. 901–908, 2003.
- HONG-BO; S.; CHU, L.Y.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C.X. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 215–225, 2008.
- HOSSEINI SALEKDEH, G.H.; REYNOLDS, M.; BENNETT, J.; BOYER, J. Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding'. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 9, p. 489–496, 2009.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 1–84, 2013.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 1–83, 2017.
- IPCC. Summary for policymakers of climate change 2007: the physical science basis. **Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- IPCC. Climate change and water, in Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, eds BATES, B.C.; KUNDZEWICZ, Z.W.; PALUTIKOF, J.; WU, S. (Eds.). Geneva: **IPCC Secretariat**, 2008.
- KANGASJÄRVI, S.; NEUKERMANS, J.; LI, S. *et al.* Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 1619–1636, 2012.
- KERSTIENS, G. Water transport in plant cuticles: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 11, p. 2493–2499, 2006.

- KIMATI, H. *et al.* **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ª edição. São Paulo: Ceres, v. 2, p. 774, 1997.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. 2ª edição. Springer, 604 p., 2008.
- LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant Cell Environmental**, v. 25, p. 275-294, 2002.
- LEMOES, O.F.; POLTRONIERI, M.C.; MENEZES, I.C.; MONDIM, M. Conservação e melhoramento genético da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) em associação com as técnicas de biotecnologia. Belém, Pará: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2011.
- LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2006.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.
- LIMA, A.L.S. *et al.* Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 47, n. 3, p. 239-247, 2002.
- LIMA, J.S.S.; OLIVEIRA, R.B.; ROCHA, W.; OLIVEIRA, P.C.; QUARTEZANI, W.Z. Análise espacial de atributos químicos do solo e da produção da cultura da Pimenta-do-Reino (*Piper nigrum* L.). **Idesia**, v. 28, p. 31-39, 2010.
- LOCONTE, H.; STEVENSON, D.W. Cladistics of the *Magnoliidae*. **Cladistics**, v. 7(3), p. 267-296, 1991.
- MATHEW, P.J.; MATHEW, P.M.; KUMAR, V. Graph clustering of *Piper nigrum* L. (Black pepper). **Euphytica**, v. 118, p. 257-264, 2001.
- MEDRANO, H.; ESCALONA, J.M.; BOTA, J.; GULIAS, J.; FLEXAS, J. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductances as a reference parameter. **Annals of Botany**, v. 89, p. 895-905, 2002.
- MITTLER, R.; BLUMWALD, E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 443-462, 2010.
- NELSON, S.C.; CANNON-EGGER, K.T. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Black Pepper (*Piper nigrum* L.). 2ª edição. ELEVITCH, C.R. (Ed.). **Permanent Agriculture Resources (PAR)**, Holualoa, Hawai, 2011.
- OUKARROUM, A.; MADIDI, S.E.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R.J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 438-46, 2007.

- PARMAR, V.S.; JAIN, S.C.; BISHT, K.S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O.D.; PRASAD, A.K.; WENGEL, J.; OLSEN, C.E.; BOLL, P.M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, p. 597-673, 1997.
- PASSIOURA, J.B. Drought and drought tolerance. *In*: BELHASSEN, E. (Ed.). **Drought Tolerance in Higher Plants: Genetical, Physiological and Molecular Biological Analysis**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 1-6, 1997.
- PIROZYNSKI, K.A.; HAWKSWORTH, D.L. Coevolution of fungi with plants and animals: introduction and overview. *In*: PIROZYNSKI, K.A.; HAWKSWORTH, D.L. **Coevolution of fungi with plants and animals**. London: Academic Press, p. 1-29, 1988.
- PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. **Dissertação de Mestrado apresentado à Instituto de Ciências Exatas**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, p. 1-110, 2006.
- POLTRONIERI, M.C.; LEMOS, O.F.; ALBUQUERQUE, F.C. Pimenta-do-reino. *In*: **PROGRAMA de melhoramento genético e adaptação de espécies vegetais para a Amazônia oriental**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, p. 127-137, 1999.
- POLTRONIERI, M.C.; LEMOS, O.F. Pimenta do reino: cultivares. **Boletim Técnico**: Embrapa Amazônia Oriental, 2014.
- PORTER, J.R.; SEMENOV, M.A. Crop responses to climatic variability. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Science**, v. 360, p. 2021–2035, 2005.
- PRADEEP KUMAR, T.; KARIHALOO, J.L.; ARCHAK, S.; BALDEV, A. Analysis of genetic diversity in *Piper nigrum* L. using RAPD markers. **Genetic Research and Crop Evolution**, v. 50, p. 469–75, 2003.
- ROYER, D.L. Stomatal density and stomatal index as indicators of paleoatmospheric CO₂ concentration. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 114, n. 2, p. 1-28, 2001.
- SALAH, H.B.H.; TARDIEU, F. Control of leaf expansion rate of droughted maize plants under fluctuating evaporative demand. **Plant Physiology**, Maryland, v. 114, n. 3, p. 893-900, 1997.
- SANTOS, H.A. *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum*. **Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias**, Universidade de Brasília - UnB, 2008. 94f.
- SCHREIBER, U.; SCHLIWA, U.; BILGER, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulated fluorometer. **Photosynthesis Research**, v. 10, p. 51–62, 1986.
- SCHREIBER, U. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. *In*: PAPAGEORGIOU, G.C.; GOVINDJEE (Ed.). **Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis**. Dordrecht: Springer Verlag, p. 279-319, 2004.

- SEAG – Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca, Governo do Estado do Espírito Santo. Pimenta-do-reino, 2013. Disponível em: <https://seag.es.gov.br/producao>.
- SENGUPTA, S.; RAY, A.B. The Chemistry of Piper species: a review. **Fitoterapia**, v. 58, p. 147-166, 1987.
- SILVA, S.O.; NETO, A.P.D.; SILVA, M.B. Pimenta-do-reino: importância da defesa fitossanitária para a sustentabilidade da atividade na região norte do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 1, n. 1, p. 88-92, 2011.
- SNOEIJERS, S.S.; PÉREZ-GARCIA, A.; JOOSTEN, M.H.A.J.; DeWit, P.J.G.M. The effects of nitrogen on disease development and gene expression in bacterial and fungal plant pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, v. 106, n. 6, p. 493-506, 2000.
- SNYDER, W.C.; HANSEN, H.N. Species concept, genetics, and pathogenicity in *Hypomyces solani*. **Phytopathology**, v. 44, p. 338-342, 1953.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odesa: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.
- SYVERTSEN, J.P.; BAUSHER, M.G.; ALBRIGO, L.G. Water relations and related leaf characteristics of healthy and blight affected citrus trees. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 105, p. 431-434, 1980.
- TORRECILLAS, A.; ALARCÓN, J.J.; DOMINGO, R. *et al.* Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. **Plant Science**, v. 118, p. 135-43, 1996.
- TREMACOLDI, C.R. Principais Doenças Fúngicas da Pimenteira-do-Reino no Estado do Pará e Recomendações de Controle. **Embrapa Amazônia Oriental**, Belém-PA, p. 25, 2010.
- TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, L.S. Doenças da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BARGAMIN FILHO, A. *et al.* (Eds). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 579-593, 1997.
- VENTURA, J.A.; COSTA, H. **Manejo da fusariose da pimenta-do-reino no estado do Espírito Santo**. INCAPER, Vitória, 2004. 16p.
- WAARD, P.W.F. Problem areas and prospects of production of pepper (*Piper nigrum* L.): an overview. Amsterdam: **Royal Tropical Institute**, 1980.
- WAARD, P.W.F.; ZAUBIN, R. Current state and prospective trends of black pepper (*Piper nigrum* L.) production. **Outlook on Agricultures**, v. 1, n.4, p. 6-195, 1984.
- WALTON, J.D. Deconstructing the Cell Wall. **Plant Physiology**, v. 104, n. 4, p. 1113-1118, 1994.
- WHEELER, T.; RUSH, C.M. Soilborne diseases. *In*: MALOY, O.C.; MURRAY, T.D. (Eds.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. New York: JohnWiley & Sons, p. 935-947, 2001.

WINDELS, C.E. *Fusarium*. In: SINGLETON, L.L.; MIHAIL, J.D.; RUSH, C.M. (Eds.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1992. 266p.

XING, L.J.; WESTPHAL, A. Interaction of *Fusarium solani* f. sp *glycines* and *Heterodera glycines* in sudden death syndrome of soybean. **Phytopathology**, v. 96, n. 7, p. 763-770, 2006.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance, **Photosynthetica**, v. 38, p. 171–186, 2000.

YUNCKER, T.G. **The Piperaceae of Brazil**. 2^a edição. São Paulo: Hoehnea, 1972. 366p.

ZHANG, J.; DAVIES, W.J. Changes in concentration of ABA in the xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. **Plant and Cell Environment**, v. 13, n. 2, p. 271-285, 1990.

ZHANG, N. *et al.* Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infection in both humans and plants are common in the environment. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2186-2190, 2006.

CAPÍTULO 1 – Evaluation of *in vitro* inhibition of mycelial growth of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* by different products in Brazil

Verônica D'Addazio^{1*} • Renata Aparecida Ahnert dos Santos² • Arthur Salomão Bastos Leitão² • Marcelo Barreto da Silva² • Adriano Alves Fernandes² • Antelmo Ralph Falqueto²

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, CEP 29932-900, São Mateus, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: veronicaddazio@yahoo.com

Periódico em que foi publicado: *African Journal of Microbiology Research*

Full Length Research Paper

Evaluation of *in vitro* inhibition of mycelial growth of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* by different products in Brazil

Verônica D'Addazio^{1*}, Renata Aparecida Ahnert dos Santos², Arthur Salomão Bastos Leitão², Marcelo Barreto da Silva², Adriano Alves Fernandes² and Antelmo Ralph Falqueto²

¹Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - Av. Fernando Ferrari, 514 – Goiabeiras, 29075-910 - Vitória, ES, Brazil.

²Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - Centro Universitário Norte do Espírito Santo – CEUNES, Rodovia BR 101 Norte, Km 60 - Bairro Litorâneo, 29932-540 - São Mateus, ES, Brazil.

Received 3 September, 2016; Accepted 28 October, 2016

The black pepper (*Piper nigrum* L.) is one of the most popular peppers in the world. Nonetheless, there are several limitations on cultivation, resulting in reduced production or a complete loss of the crop. The major disease affecting this crop is fusarium root rot caused by *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, which is responsible for decimating whole crops in Brazil, with losses reaching millions of dollars per year. So far, there is no effective control measure against this fungus and no cultivars resistant to it. In this study, *in vitro* effects of different products on colony growth was evaluated. Carbendazim, chitosan, silicon, and phosphate were tested against *F. solani* f. sp. *piperis* isolates CML-2466, CML-2353, E-637, and E-596. Chitosan and silicon did not inhibit mycelial growth of any of the isolates, while phosphite inhibited mycelial growth by 100%. Carbendazim was found to be fungitoxic for isolates CML-2353 and E-596 and fungistatic for CML-2466 and E-637, inhibiting the mycelial growth of these isolates by 60 and 80%, respectively. There were no dose effects of the products tested.

Key words: *Fusarium solani*, Black pepper, chitosan, silicon, phosphite, carbendazim

INTRODUCTION

Among the major factors limiting agricultural production are infections with fungi, bacteria, viruses, and nematodes, insects, mites, and weeds (Kreyci and Menten, 2013). It is estimated that, agricultural losses due to pest attacks reach US \$1.4 trillion, or almost 5% of global gross domestic product (GDP) worldwide.

According to Nojosa et al. (2015), the losses for the Brazilian agribusiness can be as high as \$55 billion annually due to diseases of crops, which is equivalent to the average annual loss of 7.7% or 25 million tons of agricultural produce. According to the Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations (UN)

*Corresponding author. E-mail: veronicadaddazio@yahoo.com Tel: +55 (27) 3312-1548.

Author(s) agree that this article remains permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

pathogens are responsible for 13.3% of such damages.

The black pepper (*Piper nigrum* L.), which accounts for ~57,800 tons of national agricultural produce (IBGE, 2016), has been affected by root rot, also known as fusariosis (Kimati et al., 1997). This severe disease can cause a lot of damage to the crop, with an annual reduction of 3% in the cultivated area and production. A healthy pepper crop has a productive cycle potential of 12 years on average. This disease reduces the cycle by 5 to 6 years (Tremacoldi, 2014). The causal agent is *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. emend. Snyd. & Hans.f. sp. *piperis*, Albuquerque (Teleomorphs *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuq.). The *Fusarium* species are widely distributed in the soil, and in an adverse environment, form a resistant structure called *chlamydospore*, which can remain viable for more than 20 years (Pfenning and Lima, 2007). After infection, the fungi settles down in the vascular system of the plant, hindering the absorption of water and nutrients (Bedendo, 1995). Once inside the root system, the fungi are initially limited to the root or the plant base and, at some point, begin to spread to the vascular system. The damage is due to colonization of xylem vessels by hyphae and microconidia; hypertrophy and hyperplasia of the cambium, xylem, and phloem; destruction of xylem fibers and amyloplasts in parenchymatous cells; and production of gels by the plant (Ortiz et al., 2014). Eventually, the combination of the fungal growth in the vascular system, fungal toxins such as naphthoquinones and fusaric acid (Rocha et al., 2016), and defense structures produced by the plant hamper the absorption and transport of water, causing wilt and death of the plant (Wheeler and Rush, 2001).

Strategies for *F. solani* sp. *piperis* control are limited because there is still no information on resistant cultivars and an effective fungicide does not exist (or is not officially approved in Brazil). *In vitro*, studies are needed to identify the products with the possible ability to control the fungus. To this end, various compounds are being tested. Benzimidazole fungicides are used extensively in agriculture due to strong systemic activity against a great number of fungal species (Reis et al., 2001). Carbendazim, a systemic fungicide with a benzimidazole chemical group, exerts both preventive and curative action (Kus and Altanlar, 2003). Among the products with great potential antifungal stand out chitosan, silicon and phosphite. Such products have not been tested effectively in black pepper as an alternative method of controlling fusarium or were used on a small scale without scientific evidence. Thus, various control methods are used to minimize the severity of the disease. Chitosan, a high-molecular-weight polysaccharide, has many physicochemical and biological properties (El-Ghaouth et al., 1994), e.g., antimicrobial activity against some fungi (yeasts) and bacteria (Allan and Hadwiger, 1979; Roller and Covill, 1999). Among mineral nutrients used in pest management, silicon (Si) stands out as an

element that reduces severity of major diseases in several crops (Epstein, 1999). Silicon can act on the constitution of the physical barrier to prevent penetration of fungi and affects the signals between the host and the pathogen, resulting in more rapid and extensive activation of pre- and post-formed defense mechanisms in the plant (Chérif et al., 1994; Epstein, 1999), e.g., by increasing the synthesis of phenolic compounds and peroxidase, polyphenoloxidase, chitinase, and β -glucosidase (Fauteux et al., 2005). Phosphites are characterized by their effectiveness in controlling downy mildew and various diseases caused by genus *Phytophthora* (Ouimette and Coffey, 1989), exert acropetal and basipetal systemic action and suppress foliar and root diseases (Guest and Grant, 1991). Furthermore, they have high stability in plants and may remain active for substantial periods (Smillie et al., 1989). Regarding the mechanism of action of phosphites, some authors discuss direct action on the pathogen (Fenn and Coffey, 1984; Fenn and Coffey, 1985; McGrath, 2004). Others suggest that the mechanism is indirect, via activation of plant defense mechanisms (Nemestothy and Guest, 1990; Saindrenan et al., 1990) or a combination of direct and indirect effects (Smillie et al., 1989; Jackson et al., 2000).

The objective of the present study was to evaluate the effects of alternative antifungal agents such as chitosan, silicon, and phosphite as well as the known fungicide carbendazim on mycelial growth of *F. solani* f. sp. *piperis* *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS

F. solani f. sp. *piperis* isolates

The isolates that we tested were CML-2466 and CML-2353 (Coleção Micológica de Lavras, Universidade Federal de Lavras - Minas Gerais State) and E-637 and E-596 (Incaper - Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - Espírito Santo State). The isolates were maintained in Petri dishes containing potato dextrose agar (PDA) in refrigerator at 4°C. Every month, an agar disk (5mm) from a pure culture of *F. solani* was placed in the center of a PDA plate containing the same medium. The plates were incubated at 25°C in biochemical oxygen demand (B.O.D.), with the photoperiod of 12 h.

Preparation of chitosan, silicon, phosphite, and carbendazim concentrations

Chitosan was added to the PDA medium at concentrations of 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%, 2.5, and 3.0%. Chitosan (Fagron®) was extracted in acetic acid and diluted in water to a concentration of 2% at pH 4.4. This substance has high viscosity and was diluted with sterilized distilled water to obtain the desired concentrations. The other products added to the culture medium at the following concentrations were: silicon (SiO₂) at 0.25, 0.50, 1.0, 1.5, 2.0, or 3.0 g L⁻¹; phosphite (Phosethyl Al) at 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, or 6.0 g L⁻¹; and carbendazim (Carbomax 500®) at 0.83, 1.67, 2.50, 3.34, 4.16, or 5.0 ml L⁻¹. As controls, we used Petri dishes containing PDA medium supplemented with 2% of acetic acid for the treatment with

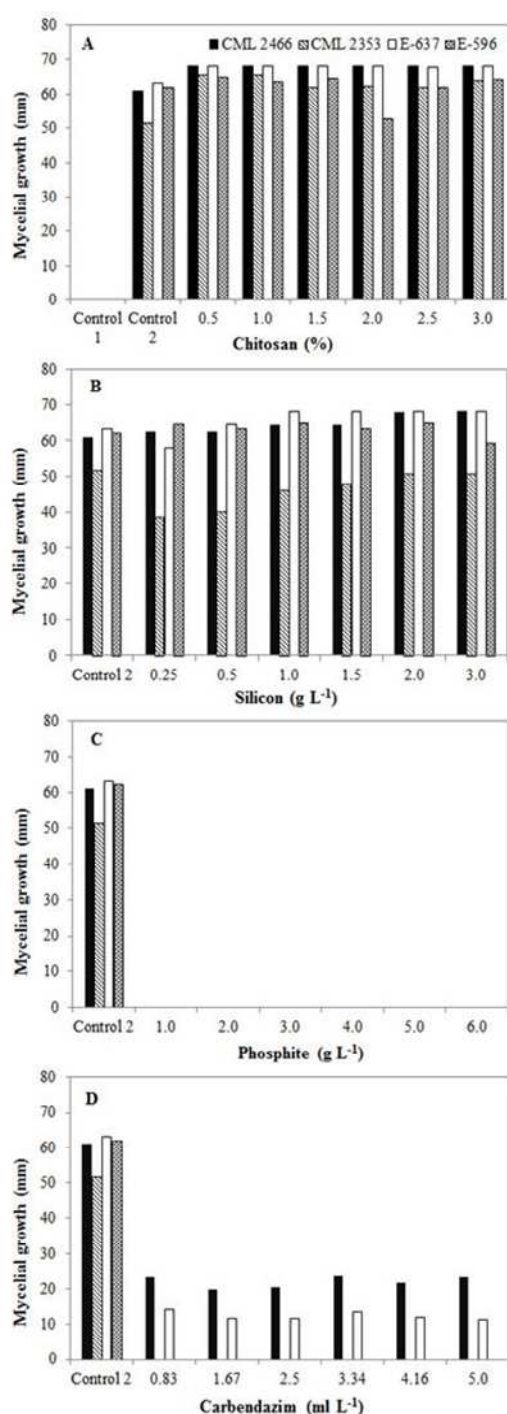


Figure 1. Effect of chitosan (A), silicon (B), phosphite (C) and carbendazim (D) on the mycelial growth of *F. solani* isolates. Control 1: PDA medium supplemented with 2% of acetic acid; Control 2: only PDA medium.

chitosan (Control 1) and/or only the PDA medium (Control 2). After solidification, a fungal mycelial disc 5mm in diameter, 15 days old, was transferred to the center of each Petri dish (68-mm diameter). This procedure was performed for each *F. solani* isolate. The plates were sealed with parafilm and maintained in B.O.D at 25°C, with a photoperiod of 12 h.

Effect of different products on mycelial growth of *F. solani* isolates

The mycelial growth of *F. solani* isolates was assessed daily by measuring the diameter of the colonies in orthogonal directions by means of a pachymeter, until the colonies in control treatments reached the edge of the board. The percent growth inhibition was calculated according to Guo et al. (2006), using the following formula: antifungal index (%) = $(1 - Da/Db) \times 100$, where D_a was the diameter of the zone of growth in the test plates, and D_b was the diameter of growth zone in the control plate.

Statistical analysis

The experiment was performed using randomized block design (RBD) with 28 treatments and five repetitions for each isolate of *F. solani*. Each repetition consisted of a Petri dish. Each experiment was repeated three times. The significance of treatment effects on radial growth among isolates was tested with analysis of variance (ANOVA). Where significant F values were obtained, Tukey's all pairwise comparison test, which includes a correction for multiple comparisons, was used to assess the significance of differences between means in the statistical software ASSISTAT 7.1 beta (Silva and Azevedo, 2009).

RESULTS

The mycelial growth of *F. solani* was not inhibited by any chitosan concentrations tested except for the test plate PDA with added acetic acid. The presence of chitosan favored the growth of the four fungal isolates: CML-2466 and E-637 reaching the edge of the plate after 9 days of incubation, and CML-2353 and E-596 showed maximal growth after 11 days (Figure 1A). The fungi were also seeded on agar-agar with added chitosan (same concentrations) or agar-agar only and all reached the edge of the plate after 9 days of growth (data not shown). Silicon, at the concentrations tested, did not inhibit fungal growth (Figure 1B). For CML-2353, at concentrations of 0.25 and 0.5 g L⁻¹, the inhibition rate was 25.28 and 22.07%, respectively. At other concentrations, the inhibition rate was below 11%. The other strains grew normally at all concentrations of silicon tested (Table 1B). Phosphite proved to be effective in inhibiting the mycelial growth of fungi under all our experimental conditions (Figure 1C). None of the plates showed mycelial growth at the tested doses of phosphite.

Carbendazim was 100% effective against two of the four isolates tested. The mycelial growth of CML-2353 and E-596 were completely inhibited at the various concentrations of carbendazim. Carbendazim exerted a fungistatic effect on the isolates CML-2466 and E-637,

Table 1. Colony diameter (C.D.) and percent growth inhibition (P.I.) of *F. solani* isolates in chitosan (A), silicon (B), phosphite (C) and carbendazim (D).

A								
Chitosan (%)	CML 2466**		CML 2353**		E-637**		E-596**	
	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)
Control 1	0 ^c	100	0 ^c	100	0 ^b	100	0 ^b	100
Control 2	60.95 ^d	0	51.58 ^b	0	63.16 ^a	0	62.03 ^a	0
0.5	68.00 ^a	-11.57	65.56 ^a	-27.10	68.00 ^a	-7.66	65.04 ^a	-4.86
1.0	68.00 ^a	-11.57	65.53 ^a	-27.05	68.00 ^a	-7.66	63.76 ^a	-2.79
1.5	68.00 ^a	-11.57	62.16 ^a	-20.51	68.00 ^a	-7.66	64.64 ^a	-4.21
2.0	68.00 ^a	-11.57	62.49 ^a	-21.15	68.00 ^a	-7.66	52.95 ^a	14.63
2.5	68.00 ^a	-11.57	62.21 ^a	-20.61	67.85 ^a	-7.43	61.96 ^a	0.12
3.0	68.00 ^a	-11.57	64.17 ^a	-24.41	68.00 ^a	-7.66	64.49 ^a	4.30
V.C. (%) =	4.72		7.96		4.12		12.71	
B								
Silicon (g L ⁻¹)	CML 2466 ^{n.s.}		CML 2353*		E-637**		E-596 ^{n.s.}	
	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)
Control 2	60.95 ^a	0	51.58 ^a	0	63.16 ^{ab}	0	62.03 ^a	0
0.25	62.48 ^a	-2.51	38.54 ^b	25.28	58.00 ^b	8.17	64.63 ^a	-24.22
0.5	62.50 ^a	-2.54	40.20 ^{ab}	22.07	64.57 ^{ab}	-2.24	63.43 ^a	-21.92
1.0	64.33 ^a	-5.54	46.15 ^{ab}	10.53	68.00 ^a	-7.66	64.90 ^a	-24.73
1.5	64.43 ^a	-5.72	47.82 ^{ab}	7.29	68.00 ^a	-7.66	63.38 ^a	-21.81
2.0	67.78 ^a	-11.20	50.78 ^{ab}	1.56	68.00 ^a	-7.66	65.13 ^a	-25.18
3.0	68.00 ^a	-11.57	50.66 ^{ab}	1.78	68.00 ^a	-7.66	59.33 ^a	-14.03
V.C. (%) =	9.82		12.47		5.98		12.05	
C								
Phosphite (g L ⁻¹)	CML 2466**		CML 2353**		E-637**		E-596**	
	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)
Control	60.95 ^a	0	51.58 ^a	0	63.16 ^a	0	62.03 ^a	0
1.0	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100
2.0	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100
3.0	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100
4.0	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100
5.0	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100
6.0	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100	0 ^b	100
V.C. (%) =	34.0		13.35		28.70		10.34	
D								
Carbendazim (ml L ⁻¹)	CML 2466**		CML 2353**		E-637**		E-596**	
	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)	C.D. (mm)	P.I. (%)
Control 2	60.95 ^a	0	51.58 ^a	0	63.16 ^a	0	62.03 ^a	0
0.83	23.45 ^b	61.52	0 ^b	100	14.18 ^b	77.55	0 ^b	100
1.67	19.77 ^b	67.57	0 ^b	100	11.81 ^b	81.30	0 ^b	100
2.50	20.61 ^b	66.19	0 ^b	100	11.65 ^b	81.55	0 ^b	100
3.34	23.67 ^b	61.16	0 ^b	100	13.50 ^b	78.63	0 ^b	100
4.16	21.89 ^b	64.09	0 ^b	100	12.09 ^b	80.86	0 ^b	100
5.0	23.49 ^b	61.46	0 ^b	100	11.40 ^b	81.96	0 ^b	100
V.C. (%) =	16.56		13.35		14.73		10.34	

Averages followed by the same letter are not statistically different among themselves, by Tukey test. V.C. = Variation coefficient; ** significant at 1% probability ($p < 0.01$); * significant at 5% probability ($0.01 < p < 0.05$); ^{n.s.} not significant ($p > 0.05$).

and the effect was not dosedependent. The inhibition of growth of these isolates was 60 and 80%, respectively (Figure 1D, Table 1D).

DISCUSSION

The absence of inhibition of mycelial growth by chitosan suggested that the *F. solani* f. sp. *piperis* isolates can use this substance as an additional carbon source. This is possibly because chitosan is a polysaccharide, and probably, the fungus uses it as a source of nutrients for its growth. Nascimento et al. (2007), studying fungi causing grapevine trunk diseases, found that chitosan inhibited the growth of all fungi tested except *Neonectria liriodendri*, which grew at all the concentrations analyzed. According to Baños et al. (2004) and Bhaskara-Reddy et al. (1998), mycelial growth and sporulation of *Penicillium digitatum* and *Alternaria alternata*, respectively, were stimulated by the presence of chitosan. These authors believed that such behavior may be a response to stress caused by the chitosan. Several studies have shown that the biological activity of chitosan is significantly dependent upon its molecular weight, acetylation degree (Alfredsen et al., 2004; Wu et al., 2004; Torr et al., 2005), pH of the medium (Devlieghere et al., 2004), and the microorganism membrane characteristics (Qi et al., 2004). In general, the lower the molecular weight and degree of acetylation of chitosan, the greater the efficacy at reducing the growth and multiplication of microorganisms (Goy et al., 2009). The other possibility is the unusual pH of the culture medium, which remained acidic (about 4.0). The ability of fungi to grow in wider pH ranges is associated with the presence of pH-regulatory systems. These regulatory systems are mediated by differential production of extracellular enzymes and metabolites as a function of pH of the medium (Denison, 2000). It is likely that this pH adjustment mechanism also exists in *F. solani*. This phenomenon may be associated with fungal survivability for long periods in the soil, even under adverse conditions. In control plates where we added acetic acid, there was no growth for any of the isolates tested. Sholberg et al. (2000) reported that the inhibitory effect of acetic acid on microorganisms is due to the reduction in pH as well as the ability of the coupled molecules of acetic acid to pass easily through the membrane of conidia, exerting its toxic effect by reducing the cellular protoplasm. This mechanism may explain the inhibition of mycelial growth of *F. solani* in control plates containing only PDA with added acetic acid. Chitosan's effects on growth of microorganisms are well known, but the mechanisms underlying its antifungal action have not been fully elucidated. The response to this possible antifungal agent may vary depending on the pathogen (El-Ghaouth et al. 1992).

Our results suggest that silicon does not have direct action on the *F. solani* isolates tested because it induced mycelial growth at all concentrations. Silicon probably

acts as a resistance inducer in the plant. Similar results were reported by Carré-Missio et al. (2010), who studied the effect of silicon on *Pestalotia* leaf spot in cultivated strawberry. *In vitro* results showed that silicon at the dose of 8 g L⁻¹ does not inhibit mycelial growth of *Pestalotia longisetula*. In another study, the growth of *Fusarium* spp. and *Verticillium* spp. were enhanced at silicon concentrations of 5 and 10 ml L⁻¹, respectively (Kaiser et al. 2005). Generally, silicates do not act directly on microorganisms that cause diseases in plants, but have alternative mechanisms of action, which in some cases—because of their beneficial effect on the plant—may reduce abiotic and biotic types of stress (Zambolim et al. 2012). In the literature, there are reports of reduced and increased intensity of diseases in plants after treatment with silicon (Zambolim and Ventura, 1996). Silicon can act locally by inducing defensive reactions in cells and can also contribute to systemic resistance by increasing the production of stress hormones. Nonetheless, the exact mechanism by which silicon modulates signaling in plants remains unclear. Evidence suggests that silicon can act as an enhancer of plant defense responses or as a strategic signaling proteins. Silicon can therefore interact with several key components of the plant stress response-related signaling pathways, leading to effective resistance to pathogenic fungi.

In agreement with the results of our study, Araújo et al. (2008), while studying *Colletotrichum gloeosporioides*, showed that potassium phosphite (Fitofós K®) has a direct effect on this fungus, almost completely inhibiting the mycelial growth *in vitro*. Potassium phosphite was tested against *Penicillium expansum*, which causes postharvest blue mold infections on apple fruits; this compound completely inhibited the mycelial growth (Amiri and Bompeix, 2011). In a study made by Lobato et al. (2010), phosphate exerted a fungicidal effect on pathogens of potatoes: *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, and *Streptomyces scabies*. According to Guest and Grant (1991), phosphites inhibit the growth of pathogens in plants via a complex mechanism of action. The first stage is a direct fungistatic effect, which is dependent on the concentration of phosphite that accumulates in the fungus. This, in turn, is influenced by the concentration of phosphate, and the effectiveness of the phosphite oxidation system. The second step is a change in the metabolism of the pathogen, such that a faster and more effective defensive response by the plant can develop. These alterations imply a reduction in the amount of suppressor molecules on the pathogen's surface or an increase in the number of receptors exposed to agonists in host cells, or both, suggesting that phosphites may have multiple modes of action. As for the direct action on the pathogen, it is known that phosphorous acid and its derivatives act by inhibiting the process of oxidative phosphorylation in Oomycetes (McGrath, 2004). In general, the effects of phosphites on the phytopathogens are mediated by the formation of membrane pores due to

damage to the plasma membrane and cell wall of the hyphae, probably because of transcription changes in genes that encode proteins involved in the biosynthesis of their components and other parts of the overall cellular metabolism. These changes compromise the morphology, physiology, and sporulation of the fungus, interfering with the parasitism (Smillie et al., 1989; King et al., 2010). The indirect action of phosphate involves activation of plant defense mechanisms such as stimulation of the production of phytoalexins (Guest and Grant, 1991; Daniel and Guest, 2006) or lignification and production of phenols (Nojosa et al., 2005).

The biological activity of benzimidazoles (such as carbendazim) is mediated by interference with the formation and functioning of microtubules in eukaryotic cells. The affinity of benzimidazole for tubulin is the main factor determining its fungicidal activity. The stronger the binding affinity of the compound for tubulin, the more sensitive is the organism to the fungicide. Also, resistance to carbendazim is described as a change in the α -tubulin protein, which reduces the binding of the fungicide to this protein (Osmani and Oakley, 1991). In our study, carbendazim showed different effects when administered to the fungus. In two *F. solani* isolates, CML-2466 and E-637, this compound had a fungistatic effect at all the doses analyzed, whereas for CML-2353 and E-596 isolates, this compound showed a fungitoxic effect. According to Sultana and Ghaffar (2013), carbendazim completely inhibits colony growth of *F. oxysporum*. When tested on mycelial growth of *Rhizoctonia solani*, carbendazim reduced it by 86% *in vitro* (Schurt et al., 2013). In addition to *in vitro* results, chitosan (El-Ghaouth et al., 1994), silicon (Epstein, 1999) and phosphites (Ouimette and Coffey, 1989) due to resistance induction characteristics are being field tested by us in Black pepper plants, to evaluate the behavior of such plants inoculated with *F. solani*.

In summary, chitosan and silicon did not inhibit the growth of *F. solani* and instead promoted the growth of most isolates. Carbendazim exerted growth control in 50% of the isolates and in the other 50%, had a fungistatic effect, and these effects were not dose-dependent. Among the products tested for possible inhibition of the mycelial growth of *F. solani* f. sp. *piperis* *in vitro*, the action of phosphite stands out: 100% inhibition in isolates CML-2466, CML-2353, E-637, and E-596.

Conflict of Interests

There is no conflict of interest of any kind related to this work.

Ethical approval

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is a part of a Doctor of Science thesis of V. D'Addazio in the Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo. V. D'Addazio is supported by CAPES. The authors thank Ludwig Pfenning, Ph.D., (Coleção Micológica de Lavras - UFPA) and José Aires Ventura (Incapar – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural) for kindly providing the *F. solani* isolates. This study was supported by FAPES- Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Grant TO 986/2014) to A. R. Falqueto.

REFERENCES

- Alfredsen G, Eikens M, Miltz H, Solheim H (2004). Screening of chitosan against wood-deteriorating fungi. *Scand J. Forest Res.* 19(5):4-13
- Allan CR, Hadwiger LA (1979). The fungicidal effect of chitosan on fungus of varying cell wall composition. *Exp. Mycol.* 3:285-287
- Amiri A, Bompeix G (2011). Control of *Penicillium expansum* with potassium phosphite and heat treatment. *Crop Protect.* 30:222-227
- Araujo L, Stadnik MJ, Borsato LC, Valdebenito-Sanhueza RM (2008). Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. *Trop. Plant Pathol.* 33:148-152.
- Baños SB, López MH, Molina EB (2004). Growth Inhibition of Selected Fungi by Chitosan and Plant Extracts. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 22:178-186.
- Bedendo IP (1995). Oídios. In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L (eds) *Manual de Fitopatologia* 3rd edn. Ceres. pp. 866-871
- Bhaskara-Reddy MV, Essaid AB, Castaigne F, Arul J (1998). Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f sp *lycopersici*. *Biocontrol Sci. Technol.* 8:33-43
- Carré-Missio V, Rodrigues FA, Schurt DA, Rezende DC, Ribeiro NB, Zambolim L (2010). Aplicação foliar de silicato de potássio, acibenzolar-S-metil e fungicidas na redução da mancha de Pestalotia em morango. *Trop. Plant Pathol.* 35:182-185
- Chérif M, Asselin A, Bélanger RR (1994). Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology.* 84:236-242
- Daniel R, Guest D (2006). Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 67:194-201
- Denison SH (2000). pH Regulation of gene expression in fungi. *Fungal Genet Biol.* 29(2):61-71
- Devlieghere F, Vermeulen A, Debevere J (2004). Chitosan: antimicrobial activity interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiol.* 21:703-714
- El-Ghaouth A, Arul J, Grenier J, Asselin A (1992). Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathology.* 82:398-402
- El-Ghaouth A, Arul J, Wilson C, Benhamou N (1994). Ultrastructural and cytochemical aspects of the effect of chitosan on decay of bell pepper fruit. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44:417-432.
- Epstein E (1999). Silicon. *Annu Rev Plant Phys.* 50:641-664
- Fauteux F, Rémus-Borel W, Menzies JG, Bélanger R (2005). Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiol Lett.* 249:1-6
- Fenn ME, Coffey MD (1985). Further evidence for direct mode of action of Fosetyl-Al and Phosphorous acid. *Phytopathology.* 75:1064-1068
- Fenn ME, Coffey MD (1984). Studies on the *in vitro* and *in vivo* antifungal activity of Fosetyl-Al and Phosphorous acid. *Phytopathology.* 74:606-611
- Goy RC, Britto D, Assis OBG (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros: Ciência e Tecnologia.* 19(3):241-247
- Guest D, Grant B (1991). The complex action of phosphonates as

1998 Afr. J. Microbiol. Res.

- antifungal agentes. *Biol Rev.* 66(2):159-187
- Guo Z, Chen R, Xing R, Liu S, Yu H, Wang P, Lia C, Lia P (2006). Novel derivatives of chitosan and their antifungal activities *in vitro*. *Carbohydr Res.* 341(3):351-354
- IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2016). Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Dados de Previsão de Safra. Available at: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp>
- Kaiser C, Merwé R, Van Der, Bekker TF, Labuschagne N (2005). In-vitro inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi, including *Phytophthora cinnamomi* by soluble silicon. *South African Avocado Growers' Association Yearbook.* 70-74.
- Kimati H, Gimenez-Fernandes N, Soave J, Kurozawa C, Brignani Neto F, Bettiol W (1997). Guia de fungicidas agrícolas - Recomendações por cultura. Grupo Paulista de Fitopatologia Jaboticabal, São Paulo, Brazil
- King M, Reeve W, Van Der Hoek MB, Williams N, McComb J, O'Brien PA, Hardy GE (2010). Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. *Mol. Genet. Genomics.* 284:425-435
- Kreyci PF, Menten JO (2013). Limitadoras de produtividade. *Cultiv Cad Técnico.* 167:1-12.
- Kus C, Altanlar N (2003). Synthesis of some new benzimidazole carbamate derivatives for evaluation of antifungal activity. *Turk. J. Chem.* 27:35-39
- Lobato MC, Olivieri FP, Daleo GR, Andreu AB (2010). Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. *J. Plant Dis. Protect.* 117(3):102-109
- McGrath MT (2004). What are fungicides? *The Plant Health Instructor.*
- Nascimento T, Rego C, Oliveira H (2007). Potential use of chitosan in the control of grapevine trunk diseases. *Phytopathol. Mediterr.* 46(2):218-224
- Nemestothy GS, Guest DI (1990). Phytoalexin accumulation phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in Fosetyl-Al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotiana* var *nicotianae*. *Physiol. Mol. Plant* 37:207-219
- Nojosa GBA, Henz GP, Sathler FGL (2015). A Introdução de Pragas e seu Impacto sobre o Acesso a Mercados In: Sugayama RL, Silva ML, Silva SXB, Ribeiro LC, Rangel LEP (eds) *Defesa Vegetal: Fundamentos Ferramentas Políticas e Perspectivas*, 1st edn. Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária, Belo Horizonte
- Nojosa GBA, Resende MLV, Resende AV (2005). Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: Cavalcanti LS, Di Piero RMP, Cia P, Pascholati SF, Resende MLV, Romeiro RS (eds) *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos*. FEALQ, Piracicaba, pp. 139-153
- Ortiz E, Cruz M, Melgarejo LM, Marquinez X, Hoyos-Carvajal L (2014). Histopathological features of infections caused by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in purple passion fruit plants (*Passiflora edulis* Sims). *Summa Phytopathol.* 40(2):134-140
- Osmani AS, Oakley BR (1991). Cell cycle and tubulin mutations in filamentous fungi. In: Bennett JW, Lasure LL (eds) *More gene manipulations in fungi*. Academic Press, San Diego, pp 107-125
- Quimette DG, Coffey MD (1989). Comparative antifungal activity of four phosphonate compounds against isolates of nine *Phytophthora* species. *Phytopathology* 79:761-767.
- Pfenning LH, Lima CS (2007). Descrição das espécies do workshop. In: *Tropical Fusarium Workshop Anais Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brazil.*
- Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydr. Res.* 339:2693-2700.
- Reis EM, Forcelini CA, Reis AC (2001). Manual de Fungicidas – Guia para o Controle Químico de Doenças de Plantas. Florianópolis, Santa Catarina, Brazil
- Rocha FS, Ferreira GHS, Silva TCSR, Amaral FL, Muniz MFS, Pereira EA (2016). Caracterização de *Fusarium solani* sp *piperis*: produção de fitotoxina e incidência da fusariose no norte de Minas Gerais. *Summa Phytopathol.* 42(1):67-72
- Roller S, Covill N (1999). The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *Int J Food Microbiol.* 47:67-77
- Saindrenan P, Barchietto T, Bompeix G (1990). Effect of phosphonate on the elicitor activity of culture filtrates of *Phytophthora cryptogea* in *Vigna unguiculata*. *Plant Sci.* 67:245-251
- Schurt DA, Rodrigues FA, Souza NFA, Reis RD (2013). Eficiência de diferentes moléculas na redução dos sintomas da queima das bainhas em arroz e no crescimento de *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Rev. Ceres.* 60(2):221-225
- Sholberg P, Haag P, Hocking R, Bedford K (2000). The use of vinegar vapor to reduce postharvest decay of harvested fruit. *HortSci.* 35(5):898-903
- Silva FAZ, Azevedo CAV (2009). Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance In: *World Congress on Computers in Agriculture 7* Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Smillie R, Grant BR, Guest D (1989). The Mode of Action of Phosphite: Evidence for Both Direct and Indirect Modes of Action on Three *Phytophthora* spp. *Plants. Phytopathology* 79(9):921-926
- Sultana N, Ghaffar A (2013). Effect of fungicides microbial antagonists and oil cakes in the control of *Fusarium oxysporum* the cause of seed rot and root infection of bottle gourd and cucumber. *Pak. J. Bot.* 45(6):2149-2156
- Torr KM, Chittenden C, Franich RA, Kreber B (2005). Advances in understanding bioactivity of chitosan and chitosan oligomers against selected wood-inhabiting fungi. *Holzforschung* 59(5):559-567
- Tremacoldi CR (2014). Doenças causadas por fungos. In: Lemos OF, Tremacoldi CR, Poltronieri MC (eds) *Boas práticas agrícolas para aumento da produtividade e qualidade da pimenta-do-reino no Estado do Pará*. Embrapa Brasília, Brazil. pp. 29-34
- Wheeler T, Rush CM (2001). Soilborne diseases. In: Maloy OC, Murray TD (eds) *Encyclopedia of Plant Pathology*. John Wiley and Sons, New York. pp. 935-947
- Wu T, Zivanovic S, Draughon FA, Sams CE (2004). Chitin and chitosan-value-added products from mushroom waste. *J. Agric. Food Chem.* 52:7905-7910
- Zambolim L, Zanão Júnior LA, Ventura JA (2012). Mecanismos de ação do silício na redução de doenças de plantas. In: Zambolim L, Ventura JA, Zanão Júnior LA (eds) *Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas*. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brazil. pp. 253-285
- Zambolim L, Ventura JA (1996). Resistência a doenças induzidas pela nutrição mineral das plantas. *Informações Agronômicas* 75:1-16

(ANEXO 3)

**CAPÍTULO 2 – Respostas fisiológicas e biométricas de plantas de pimenta-do-reino
submetidas ao déficit hídrico**

Verônica D’Addazio^{1*} • Adriano Alves Fernandes² • Marcelo Barreto da Silva² • Antelmo
Ralph Falqueto²

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais,
Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal,
CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo,
Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, CEP 29932-900, São Mateus, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: veronicaddazio@yahoo.com

Periódico a ser submetido ou submetido: a ser definido

RESUMO

Estresses ambientais provocam constantemente prejuízos na produção vegetal. Estudos atuais sobre a variação climática indicam aumento da temperatura média entre 3-5 °C nos próximos 50-100 anos, com aumento da seca, o que afetará drasticamente os sistemas agrícolas globais. O déficit hídrico é considerado um dos mais importantes fatores abióticos que limita a fotossíntese, o crescimento e produtividade das plantas. O objetivo desse estudo foi avaliar a resposta de parâmetros fisiológicos e biométricos de duas cultivares de pimenta-do-reino (Kottanadan e Bragantina) submetidas ao déficit hídrico. O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação, seguindo um delineamento em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 2x6 [cultivar (cv.): Kottanadan e Bragantina e dias de déficit hídrico (DDH): 2, 4, 6, 8, 10 e 12], com 3 repetições. Os parâmetros avaliados foram: conteúdo relativo de água (CRA), pigmentos fotossintéticos, parâmetros biométricos e fluorescência da clorofila *a*. Para a cv. Bragantina foram observadas reduções nos valores de CRA, na concentração de pigmentos fotossintéticos e alterações nos parâmetros do teste-JIP. Além disso, aumentos na produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII (F_0/F_m) e diminuições na eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII (F_v/F_0), no índice de desempenho para a conservação de energia para redução dos aceptores finais do FSI (PI_{Total}), no rendimento quântico fotoquímico máximo ou eficiência fotoquímica máxima do FSII (ϕP_0), na probabilidade com que um elétron é captado do intersistema e transferido para a redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI (δR_0), no rendimento quântico do transporte de elétrons da Q_A para o FSI (ϕR_0), no rendimento quântico para o transporte de elétrons no FSII (ϕE_0) e na eficiência com que um elétron pode mover-se para a cadeia transportadora de elétrons (ψE_0) também foram observados para essa mesma cultivar quando comparada à Kottanadan. Decréscimos nos valores de massa de matéria seca da parte aérea e raiz, número de folhas e volume de raiz foram observados para as cultivares Bragantina e Kottanadan, aos 10 e 12 DDH, respectivamente. Entretanto, a porcentagem de sobrevivência das plantas, ao final do experimento foi aproximadamente 90% e 10% para Kottanadan e Bragantina, respectivamente. As cvs. de pimenta-do-reino avaliadas são diferentes em resposta ao déficit hídrico. A cv. Kottanadan é tolerante ao déficit hídrico, mantendo a atividade fotoquímica até 12 DDH.

Palavras-chave: Bragantina • estresse hídrico • fluorescência da clorofila *a* • Kottanadan • resistência/tolerância • teste JIP •

ABSTRACT

Environmental stresses constantly cause losses in plant production. Current studies on climate change indicate increases of average temperatures between 3-5 °C in the next 50-100 years, with increases of drought, which will drastically affect global agricultural systems. The water deficit is one of the most important abiotic factors limiting photosynthesis, growth and plant production. The objective of this study was to evaluate the response of physiological and biometric parameters of two black pepper cultivars (Kottanadan and Bragantina) submitted to water deficit. The experiment was performed under greenhouse conditions following a randomized block design, in a factorial scheme 2x6 [black pepper cultivars (cv.): Kottanadan and Bragantina and six days after water deprivation-DAWD: 2, 4, 6, 8, 10 and 12 days] with 3 replicates. The parameters evaluate were: relative water content (RWC), photosynthetic pigments, biometric parameters and chlorophyll *a* fluorescence. To Bragantina, reductions of the RWC, photosynthetic pigments and alterations of JIP-test parameters were observed with the water deficit. Furthermore, increases in basal quantum yield of the process non-photochemical in PSII (F_0/F_m) and reductions of maximum efficiency of the photochemical process in PSII (F_v/F_0), overall performance index (PI_{Total}), maximum quantum yield of primary photochemistry or maximal efficiency of photosystem II (ϕP_0), Efficiency/probability with which an electron from the intersystem electron carriers moves to reduce end electron acceptors at the PSI acceptor side (δR_0), quantum yield of reduction of end electron acceptors at the PSI acceptor side (ϕR_0), quantum yield of electron transport (ϕE_0) and Efficiency/probability for electron transport (ET), i.e. efficiency/probability that an electron moves further than Q_A^- (ψE_0) were observed for this black pepper cultivar when compared to Kottanadan. Decreases of dry matter mass of aerial part and root values, leaf number and root volume were observed to the Bragantina and Kottanadan at 10 and 12 DAWD, respectively. However, the plant survival percentage at the end of experiment was about 90 and 10% in Bragantina and Kottanadan, respectively. The black pepper cultivars evaluated are different in response to water deficit. The cv. Kottanadan is tolerant to the water deficit, maintaining the photochemical activity until 12 DAWS.

Keywords: Bragantina • chlorophyll *a* fluorescence • JIP-test • Kottanadan • resistance/tolerance • water stress •

1. INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que afetam o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade dos vegetais, pode-se destacar o déficit hídrico (DH) como um dos mais impactantes (LIMA et al., 2012). As respostas ao déficit hídrico dependem da espécie, da duração do estresse, do genótipo da planta, da fase de desenvolvimento e dos fatores ambientais (BRAY, 1993). Nesse contexto, as plantas podem exibir tolerância, resistência ou suscetibilidade (quando reduz o crescimento, podendo chegar à morte, dependendo da magnitude do estresse) (CAMBRAIA, 2005). Cerca de 97% da água absorvida pelas plantas é perdida para a atmosfera pela transpiração. Aproximadamente 2% é usado para aumento de volume ou expansão celular e 1% para processos metabólicos como a fotossíntese (TAIZ e ZEIGER, 2013).

O déficit hídrico é caracterizado pela redução do conteúdo de água, diminuição do potencial hídrico e perda de turgor, fechamento de estômatos e diminuição do crescimento celular. O déficit hídrico severo pode resultar em uma limitação na fotossíntese, em distúrbios de metabolismo e, finalmente, na morte da planta (JALEEL et al., 2008; FAROOQ et al., 2008). Além disso, gera modificações na concentração de clorofilas, sendo estas estudadas em determinadas plantas como indicadores fisiológicos de estresse (MOHAWESH e AL-ABSI, 2009). As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captura de luz usada na fotossíntese, essenciais para a conversão da energia luminosa em energia química (na forma de ATP) e poder redutor (NADPH) (JESUS e MARENCO, 2008). A tolerância das plantas ao estresse abiótico é muito complexa devido a intrincadas interações entre fatores de estresse e vários fenômenos moleculares, bioquímicos e fisiológicos que afetam o crescimento e desenvolvimento da planta.

Análises das respostas fotossintéticas induzidas pelo DH proporcionam informações sobre os mecanismos que permitem às plantas exercer controle sobre o balanço energético das folhas durante a limitação da água (YORDANOV et al., 2000). Os dados disponíveis sobre ajustes fotossintéticos em plantas vasculares sob DH sugerem dois tipos de respostas, incluindo mudanças rápidas de curto prazo (segundos a minutos) e de longo prazo (horas a dias). Os processos de aclimação em curto prazo envolvem principalmente a regulação da capacidade de absorver luz e as taxas de fluxo de elétrons sob condições de DH. Por outro lado, em um DH em escala de tempo maior, as alterações nas expressões genéticas e os processos de síntese de proteínas são induzidos em favor da

estabilidade do fotossistema e de minimizar os danos foto-oxidativos (EBERHARD et al., 2008; GUHA et al., 2013). Além disso, quando o DH apresenta evolução lenta, o seu primeiro efeito biofísico significativo consiste na redução da turgescência celular, caracterizada pela diminuição do volume celular, contração das células, afrouxamento das suas paredes e, conseqüentemente, o murchamento foliar. Esse primeiro efeito compromete o crescimento da planta, uma vez que a diminuição do turgor afeta diretamente a expansão foliar e alongamento das raízes e controla a abertura estomática necessária para o influxo de CO₂, requerido no processo fotossintético e no crescimento (LARCHER, 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Em outro aspecto, diversos fatores podem ocasionar mudanças no aparato fotossintético e seus efeitos podem ser estudados a partir da fluorescência da clorofila *a*. A técnica torna possível avaliar a eficiência fotoquímica do fotossistema II (FSII) por meio de um método simples, rápido, sensível e não destrutivo utilizado em investigações de danos ou reparos causados no sistema fotossintético das plantas em função de diversos tipos de estresse (SUASSUNA et al., 2011; MARTINAZZO et al., 2012). A avaliação da fluorescência da clorofila *a* revela o nível de excitação da energia que dirige a fotossíntese e fornece subsídios para estimar a inibição ou o dano no processo de transferência de elétrons do FSII (STRASSER et al., 2000).

Nesse estudo, avaliou-se a fluorescência transiente da clorofila *a*, através dos parâmetros do teste JIP bem como os parâmetros biométricos envolvidos na resposta fisiológica de duas cultivares de pimenta-do-reino, Kottanadan e Bragantina, em condições de déficit hídrico.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Material vegetal e cultivo*

Mudas de pimenta-do-reino, cultivares (cvs.) Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), com 3 meses de idade e aproximadamente 30 cm de altura, foram obtidas do Viveiro Pingo de Ouro (Córrego do Giral, Jaguaré-ES), credenciado pelo Registro Nacional de Sementes e Mudanças - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RENASSEM). As mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 5L, preenchidos com solo e provaso na proporção de 3:1 (v/v) e mantidos em casa de vegetação (Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo, CEUNES/UFES), a temperatura média de 30°C, 70% de umidade relativa e radiação fotossinteticamente ativa média de 900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Previamente, foi feita a calagem do solo de acordo com a recomendação da análise de solo. Para a adubação do m^3 de solo foi utilizado 3,12kg CaNO_3 , 2,3kg $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 750g KCl, 400g MgSO_4 , 39g CuSO_4 , 92g H_3BO_3 , 91g MnSO_4 e 340mg ZnSO_4 (Adaptado de PREZOTTI et al, 2007).

Durante o período de 4 meses de aclimação, as plantas foram irrigadas a cada dois dias com 500 mL de água. Semanalmente, as plantas foram irrigadas com solução nutritiva com 100% de força iônica (adaptado de FERNANDES et al., 2002), em substituição à água. Cada irrigação foi feita com 500 mL por planta de água pura ou solução nutritiva. Esse procedimento foi realizado até as plantas completarem 7 meses de idade, quando iniciou-se o déficit hídrico.

2.2. *Tratamento de Déficit Hídrico (DH)*

O déficit hídrico foi imposto por meio da supressão da irrigação por 12, 10, 8, 6, 4 e 2 dias. Os dias foram escolhidos com base em um experimento prévio, para o qual 100% de mortalidade foi observada para ambas as cultivares após 14 DDH. Após cada ciclo de déficit hídrico, cada vaso foi irrigado com 500ml de água, e, em seguida, o tratamento foi reiniciado. Plantas submetidas a 2 DDH foram consideradas controle (testemunha). Cada ciclo foi considerado completo ao final de 12, 10, 8, 6, 4 e 2 dias (Figura 1) (ANEXO 4).

Dias de Déficit Hídrico (DDH)			Término
Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
12	12	12	
Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
10	10	10	
Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
8	8	8	
Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
6	6	6	
Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
4	4	4	
Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
2	2	2	

Figura 1: Esquema de implementação do déficit hídrico (DH): 12, 10, 8, 6, 4 e 2 correspondem ao número de dias de submissão das cultivares ao DH.
DH = dias de déficit hídrico

2.3. Conteúdo Relativo de Água (CRA)

A avaliação do conteúdo relativo de água (CRA) foliar foi realizada no período da manhã (6:30 – 7:30), em três plantas de cada tratamento. De cada planta retirou-se a terceira ou quarta folha completamente expandida, do ápice para a base, da qual foram extraídos cinco discos foliares com 0,78 cm² de área por disco. O CRA foi determinado seguindo a metodologia proposta por Barrs e Weatherley (1962). Os discos foram pesados imediatamente após serem extraídos das folhas, obtendo-se, assim, a massa fresca do tecido (MF). Em seguida, a massa túrgida do tecido (MT) foi obtida hidratando-se os discos foliares com água destilada por 24 horas em placa de Petri. A massa seca do tecido (MS) foi aferida após a secagem dos discos foliares em estufa durante 72h a 60°C. As respectivas massas foram determinadas em balança digital de precisão (0,0001 g). O cálculo do CRA foi realizado de acordo com a seguinte fórmula e expresso em porcentagem (%).

$$\text{CRA} = [(MF-MS) / (MT-MS)] \times 100$$

2.4. Pigmentos fotossintéticos

As mesmas folhas utilizadas para a avaliação do conteúdo relativo de água (CRA) foram utilizadas para a extração e quantificação dos pigmentos fotossintéticos: clorofilas (Chl) *a*, *b* e total e pigmentos carotenóides. A concentração de clorofila *a* e *b* foi utilizada para o cálculo da razão clorofila *a*/clorofila *b* (Chl *a/b*). Para a determinação da concentração dos pigmentos fotossintéticos foram retirados 3 discos foliares com 1 cm de

diâmetro, os quais, em seguida, foram imersos em 5 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) em tubos de ensaios envolvidos com papel alumínio. Os tubos foram mantidos em banho-maria, onde permaneceram por 24 horas a 65°C. Posteriormente, foram determinadas as leituras da densidade ótica em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) a 470nm, 645nm e 663nm (Arnon, 1949). Para a obtenção da massa seca, os discos foliares foram lavados com água destilada e secos em estufa por 72 horas a 65°C.

As determinações das concentrações dos pigmentos fotossintéticos foram realizadas de acordo com as equações propostas por Lichtenthaler (1987) e expressas em mg.g⁻¹MS:

$$\text{Clorofila } a = (12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645} / 1000 \times \text{MS}) \times V$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663} / 1000 \times \text{MS}) \times V$$

$$\text{Clorofila total} = (20,2 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645} / 1000 \times \text{MS}) \times V$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 \times A_{470}) - (1,82 \times \text{Clor } a) - (85,02 \text{ Clor } b) / (198) \times V$$

Onde: A470 = absorvância em 470 nm; A645 = absorvância em 645 nm; A663 = absorvância em 663 nm; V = volume da amostra (ml); MS = massa seca da amostra (g).

2.5. *Parâmetros Biométricos*

Para avaliar os efeitos do déficit hídrico sobre os parâmetros biométricos das plantas de pimenta-do-reino, cada planta foi separada em parte aérea e raiz. Cada parte da planta foi lavada e pesada e, posteriormente, acondicionada em sacos de papel devidamente identificados. A secagem do material ocorreu em estufa com circulação forçada de ar, durante 72 horas a 60°C. A massa fresca da parte aérea – MFPA, a massa fresca da raiz – MFR, a massa seca da parte aérea – MSPA e a massa seca da raiz – MSR foram determinadas em balança digital de precisão (0,0001 g) e expressas em g.planta⁻¹ (WILSON et al., 1999). O volume da raiz (VR) foi calculado por meio do método da proveta, pela diferença entre o volume inicial e o final, após a inserção das raízes. O número de folhas (NF) também foi obtido por meio de contagem direta.

2.6. *Fluorescência da clorofila a*

A cinética de indução da fluorescência da clorofila *a* foi medida utilizando-se um fluorômetro Handy-PEA (Hansatech, UK), em folhas jovens completamente expandidas (terceira ou quarta folha a partir do ápice), seguindo a metodologia descrita por STRASSER e STRASSER (1995). As folhas foram previamente adaptadas ao escuro por

30 minutos utilizando-se clipes foliares (Hansatech, UK). A emissão da fluorescência da clorofila *a* foi induzida por um único e forte pulso de luz [$3000 \mu\text{mol (fótons) m}^{-2}\text{s}^{-1}$] e registrada entre 10 μs e 1s em uma área de 4mm de diâmetro. Em 1s de medição foram registrados 120 sinais de fluorescência. A fluorescência aos 50 μs foi considerada como F_0 (fluorescência inicial) e aos 300ms considerada como F_m (fluorescência máxima). Para análise do comportamento dos fotossistemas I (FSI) e II (FSII), vários parâmetros bioenergéticos foram derivados a partir do transiente OJIP, de acordo com as equações do teste-JIP, utilizando-se o software Biolyzer (Laboratório de Bioenergética, Universidade de Genebra, Suíça). O teste-JIP foi analisado com base na Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas (STRASSER e STRASSER, 1995; STRASSER et al., 2004).

Os parâmetros utilizados neste estudo foram: F_0/F_m (produção quântica basal dos processos não fotoquímicos no FSII), F_v/F_0 (eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII) e os fluxos específicos por centro de reação (RC) em termos de absorção [$\text{ABS}/\text{RC} = M_0/V_J/\phi P_0$], captura [$\text{TR}_0/\text{RC} = M_0/V_J$], transporte de elétrons [$\text{ET}_0/\text{RC} = (M_0/V_J) \Psi E_0 = (M_0/V_J)(1 - V_J)$] e dissipação [$\text{DI}_0/\text{RC} = (\text{ABS}/\text{RC}) - (\text{TR}_0/\text{RC})$]. Além disso, o índice de desempenho para conservação de energia para redução dos aceptores finais do PSI [$\text{PI}_{\text{Total}} = (\text{RC}/\text{ABS}) \cdot (\phi P_0/(1-\phi P_0)) \cdot (\Psi E_0/(1 - \Psi E_0)) \cdot (\delta R_0/(1 - \delta R_0))$], o rendimento quântico fotoquímico máximo ou eficiência fotoquímica máxima do FSII [$(\phi P_0 = \text{TR}_0 / \text{ABS} = F_v/F_m)$], a probabilidade com que um elétron é captado do intersistema e transferido para redução dos aceptores finais no lado acceptor do FSI [$\delta R_0 = (1-V_J)/(1-V_J)$], o rendimento quântico para o transporte de elétrons no FSII [$(\phi E_0 = \text{ET}_0/\text{ABS})$] e o rendimento quântico para redução dos aceptores de elétrons no lado acceptor do PSI [$\phi R_0 = \phi P_0 \cdot \Psi E_0 \cdot \delta R_0 = \phi P_0(1-V_J)$] foram calculados.

2.7. Delineamento experimental

O experimento foi realizado em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), em esquema fatorial 2x6, sendo o primeiro fator representado pelas cultivares (cv.) Kottanadan e Bragantina e o segundo fator representado pelos níveis de déficit hídrico (DH) 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias. Foram utilizadas 3 repetições, totalizando 36 parcelas, com 3 plantas por parcela. As plantas foram submetidas a 3 ciclos de DH, representados na Figura 1. Para efeito de avaliação, foram considerados os dados obtidos ao final do ciclo 3. Em função da baixa taxa de sobrevivência da cv. Bragantina após 3 ciclos de déficit hídrico (Figura 2), os dados referentes a 12 dias de déficit hídrico (DDH) foram desconsiderados. Portanto, o

fatorial passou a ser 2x5, onde os dados de ambas as cultivares foram analisadas até o 10º DDH. Uma análise em DBC foi realizada separadamente para a cv. Kottanadan em todos os dias de DH (2, 4, 6, 8, 10 e 12). Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e os efeitos dos tratamentos com déficit hídrico foram avaliados pelo teste de Tukey, por meio do software ASSISTAT 7.7 beta (SILVA e AZEVEDO, 2016).

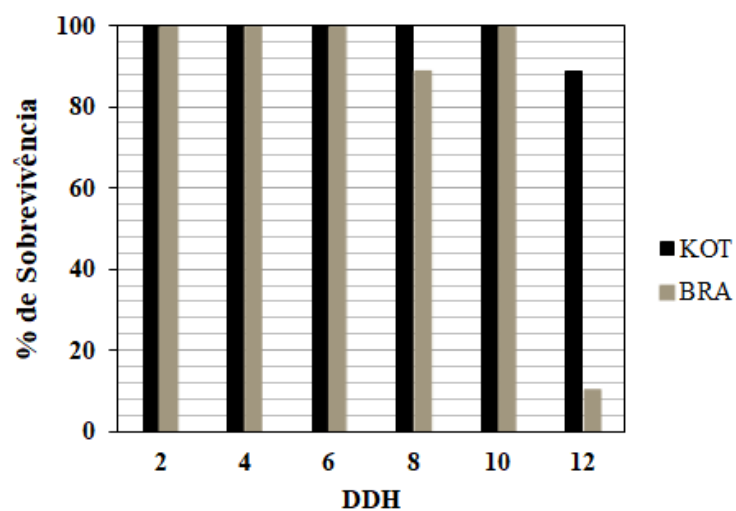


Figura 2: Porcentagem de sobrevivência de plantas de pimenta-do-reino, cultivares Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), após 3 ciclos de déficit hídrico. DDH = dias de déficit hídrico

3. RESULTADOS

3.1. Conteúdo Relativo de Água (CRA)

Sob déficit hídrico (DH), observou-se redução significativa no CRA nas plantas de pimenta-do-reino, com interação significativa ($p \leq 0,01$) entre os fatores cv. e DH. Maiores valores de CRA foram obtidos para a cv. Kottanadan quando comparada à Bragantina, que diminuiu significativamente os valores de CRA ao longo do DH. Entretanto, até o 4º DDH nenhuma diferença entre as cultivares foi observada nos valores de CRA. Observou-se uma manutenção de 59% e 22% no CRA após 10 DDH para as cvs. Kottanadan e Bragantina, respectivamente, comparativamente aos seus respectivos controles (Figura 3A).

Diferença significativa também ocorreu para a cv. Kottanadan submetida à 12 DDH ($p \leq 0,01$). Após o último dia de tratamento, houve diminuição nos valores de CRA em 51%, em comparação ao controle (Figura 3B).

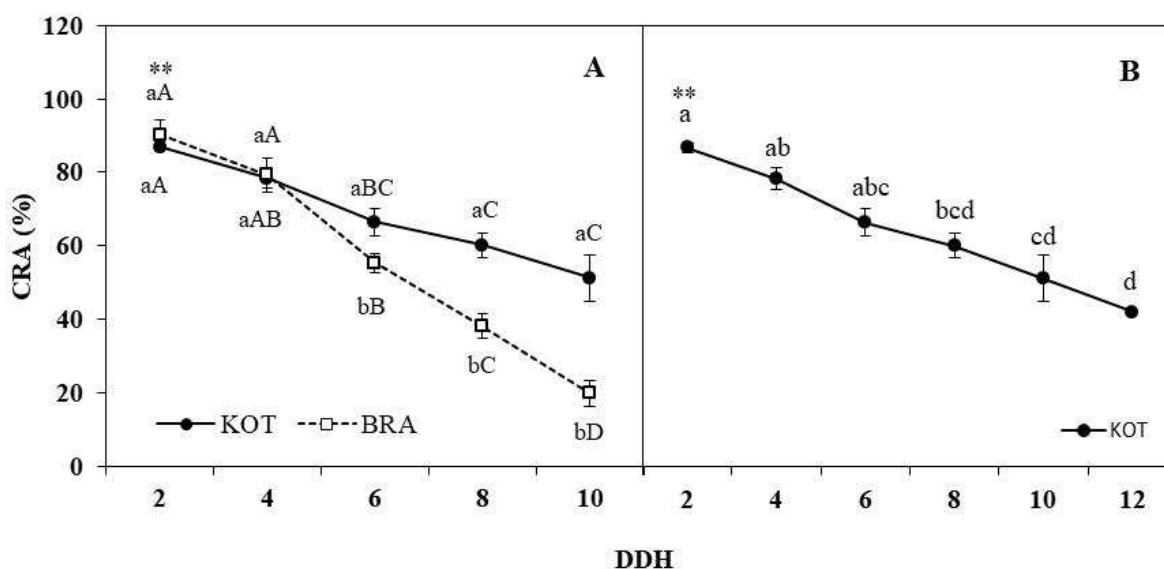


Figura 3: Conteúdo relativo de água (CRA) em folhagem das cultivares Kottanadan (●) e Bragantina (□) (A) e cultivar Kottanadan (B), após 10 e 12 DDH, respectivamente. DDH = dias de déficit hídrico

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

Barras verticais indicam erro padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

Na interação entre fatores, letras minúsculas na vertical representam “cultivar”; letras maiúsculas na horizontal representam “DH”.

3.2. Pigmentos Fotossintetizantes

As concentrações dos pigmentos fotossintéticos apresentaram alterações ao longo do DH. Os dados analisados estatisticamente mostraram diferença significativa para os fatores cv. (Tabela 1), DH (Tabela 2), para a interação cv. e DH (Tabela 3), após 10 dias e para a cv. Kottanadan (Tabela 4) após 12 dias de tratamento.

Em relação ao fator cultivar, as médias apresentadas na Tabela 1 referentes à concentração de clorofila *a*, razão clorofila *a/b* e carotenoides revelam diferença estatística entre as duas cultivares. Os resultados obtidos para a concentração de clorofila *b* e clorofila total foram significativos apenas para o fator DH, mostrando que os valores desses pigmentos diminuíram com o aumento do déficit imposto (Tabela 2). Na interação entre os fatores cv. e DH, nenhuma variação foi observada para a concentração dos pigmentos clorofila *a*, razão clorofila *a/b* e carotenoides em Kottanadan após 10 DDH. Por outro lado, a partir do 6º DDH, reduções significativas na concentração desses pigmentos foram descritas para a cv. Bragantina (Tabela 3).

Quando a cv. Kottanadan foi analisada isoladamente, menores valores de Chl *a*, Chl *b* e Chl *total* foram obtidos no 12º DDH, sem alterações significativas para a razão clorofila *a/b* e carotenoides, os quais mantiveram-se constantes em todos os dias de tratamento (Tabela 4).

Tabela 1: Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de duas cultivares de Pimenta-do-reino, submetidas a 10 dias de déficit hídrico (DDH). Chl *a* = clorofila *a*; Chl *a/b* = razão clorofila *a*/clorofila *b*; Carot. = carotenoides, representando as médias do fatorial com significância apenas para cultivar.

Cultivares	Chl <i>a</i> (mg.g ⁻¹ MS)	Chl <i>a/b</i>	Carot. (mg.g ⁻¹ MS)
KOT	32,55 a	1,44 a	453,05 a
BRA	26,20 b	1,18 b	303,65 b

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si, ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$), pelo teste de Tukey. KOT - Kottanadan, BRA – Bragantina.

Tabela 2: Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas de duas cultivares de Pimenta-do-reino, submetidas ao déficit hídrico. Chl *b* = clorofila *b* e Chl total = clorofila total, representando as médias do fatorial com significância apenas para déficit hídrico.

DH (Dias)	2	4	6	8	10	
Chl <i>b</i> (mg.g⁻¹ MS)						Média cultivares
KOT	31,97	26,61	20,84	20,34	18,81	23,72 a
BRA	24,07	21,76	19,69	19,43	10,03	19,00 a
Média DH*	28,02 A	24,18 AB	20,27 AB	19,89 AB	14,42 B	
Chl total (mg.g⁻¹ MS)						Média cultivares
KOT	60,89	55,19	49,59	46,68	45,27	51,53 a
BRA	49,69	58,94	45,21	45,26	27,12	45,24 a
Média DH**	55,29 A	57,07 A	47,40 AB	45,97 AB	36,20 B	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e pela mesmas letra minúsculas na vertical não diferem entre si, ao nível de 1% e 5% de probabilidade ($p \leq 0,01$; $p \leq 0,05$), pelo teste de Tukey. KOT - Kottanadan; BRA – Bragantina. DDH = dias de déficit hídrico.

Tabela 3: Concentração de pigmentos fotossintéticos em plantas adultas de duas cultivares de Pimenta-do-reino, submetidas ao déficit hídrico. Chl *a* = clorofila *a*; Chl *a/b* = razão clorofila *a*/clorofila *b*; Carot. = carotenoides, representando as médias do fatorial com interação significativa.

DDH	Chl <i>a</i> (mg.g ⁻¹ MS)*		Chl <i>a/b</i> *		Carot. (mg.g ⁻¹ MS)*	
	KOT	BRA	KOT	BRA	KOT	BRA
2	20,44 aA	32,43 aA	1,40 aA	1,32 aA	399,67 aA	383,43 aAB
4	34,86 aA	35,09 aA	1,37 aA	1,44 aA	458,21 aA	380,56 aAB
6	34,70 aA	28,46 aAB	1,53 aA	1,39 aA	480,26 aA	417,94 aA
8	38,29 aA	26,85 aAB	1,51 aA	1,04 bAB	490,82 aA	195,59 bBC
10	34,46 aA	08,21 bB	1,38 aA	0,75 bB	436,31 aA	140,73 bC

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na horizontal e pela mesma letra minúscula na vertical não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), pelo teste de Tukey. KOT - Kottanadan; BRA – Bragantina. DDH = dias de déficit hídrico.

Tabela 4. Concentração de pigmentos fotossintéticos para a cultivar Kottanadan submetida ao déficit hídrico. Chl *a* = clorofila *a*; Chl *b* = clorofila *b*; Chl total = clorofila total; Chl *a/b* = razão clorofila *a*/clorofila *b*; Carot. = carotenoides

DDH	Chl <i>a</i> (mg.g ⁻¹ MS)	Chl <i>b</i> (mg.g ⁻¹ MS)	Chl total (mg.g ⁻¹ MS)	Chl <i>a/b</i>	Carot. (mg.g ⁻¹ MS)
2	20,44 a	31,97 a	60,90 a	1,40 a	399,67 a
4	34,86 a	26,61 ab	55,20 ab	1,37 a	458,21 a
6	34,70 a	20,84 ab	49,60 ab	1,53 a	480,26 a
8	38,28 a	20,34 ab	46,69 ab	1,52 a	490,82 a
10	34,46 a	18,82 ab	45,27 ab	1,38 a	436,31 a
12	08,06 b	05,99 b	14,47 b	1,38 a	449,57 a

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), pelo teste de Tukey. DDH = dias de déficit hídrico.

3.3. *Parâmetros Biométricos*

De um modo geral, o DH influenciou os parâmetros biométricos das plantas de ambas as cultivares avaliadas (Figura 4 e Tabela 5).

Todos os parâmetros biométricos analisados foram afetados pelo DH, com interação significativa entre os fatores cv. e DDH a 1% ($p \leq 0,01$) e 5% ($p \leq 0,05$) para massa de matéria fresca da parte aérea (MFPA) e volume de raiz (VR), respectivamente, indicando que a MFPA e VR das cvs. dependem dos DDH as quais foram submetidas (2, 4, 6, 8 e 10) (Figura 4 A,E).

Não houve diferença significativa para a interação entre cv. e DDH nos parâmetros massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria fresca e seca da raiz (MFR e MSR, respectivamente) e número de folhas (NF), indicando que a resistência das cultivares independe da intensidade do DH (Figura 4 B,C,D,F). Entretanto, para tais parâmetros, houve diferença significativa a 1% ($p \leq 0,01$) entre as cultivares, sendo que a cv. Kottanadan apresentou maior tolerância ao DH. Também houve diferença significativa a 1% ($p \leq 0,01$) entre os DDH (2, 4, 6, 8 e 10) (Figura 4 B,C,D,F).

Foram observadas reduções nos valores da massa de matéria fresca e seca da parte aérea (MFPA e MSPA, respectivamente), massa de matéria fresca e seca da raiz (MFR e MSR, respectivamente) e número de folhas (NF) em função do aumento do DH para ambas as cultivares. Para a cv Kottanadan, o volume de raiz (VR) não apresentou alterações até o 10º DDH (Figura 4 A-F).

A cv. Kottanadan, quando analisada isoladamente, diferiu estatisticamente ($p \leq 0,01$) para todos os parâmetros biométricos analisados após 12 DDH (Tabela 5).

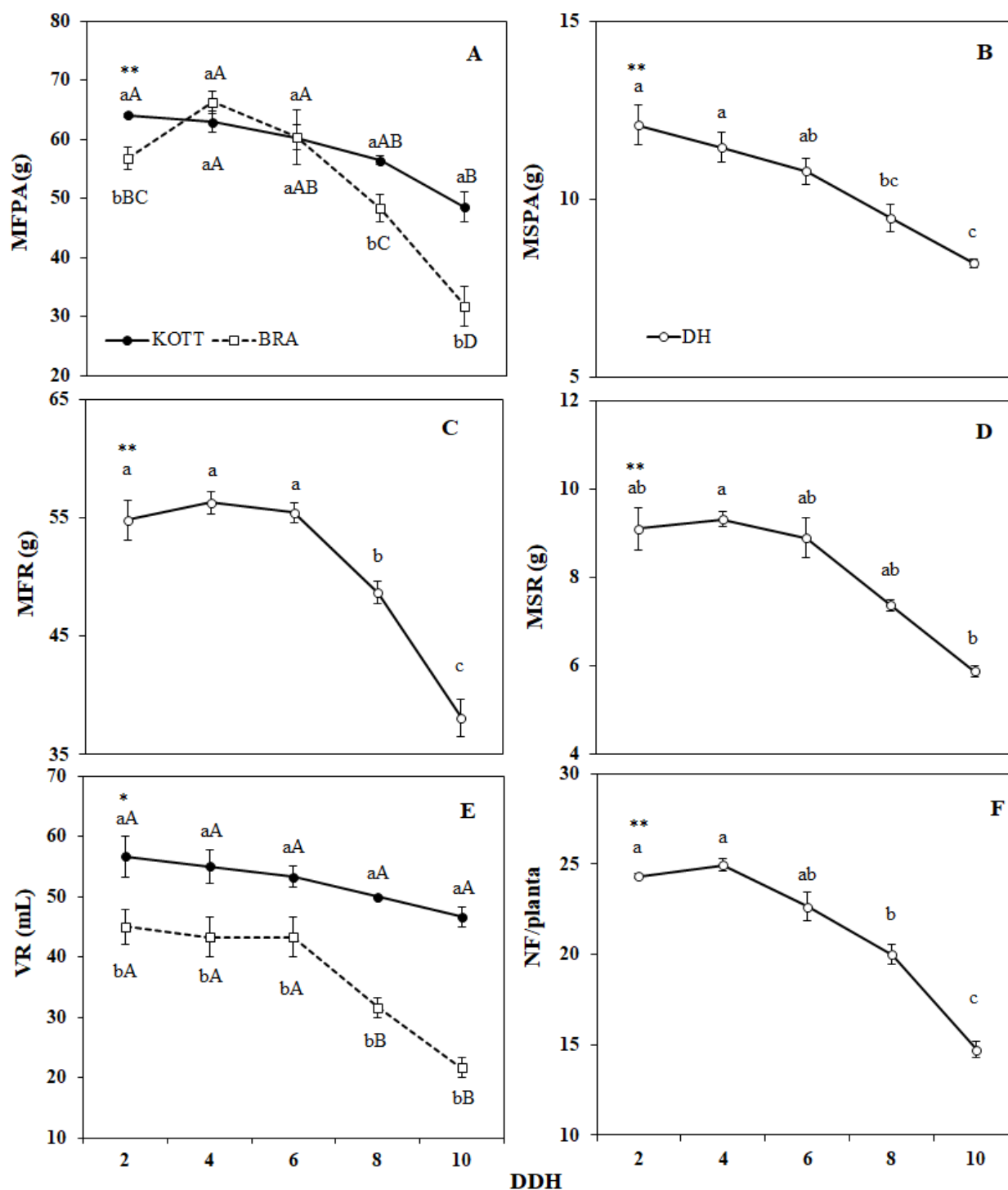


Figura 4: Massa de matéria fresca da parte aérea – MFPA (A), massa de matéria seca da parte aérea – MSPA (B), massa de matéria fresca da raiz – MFR (C), massa de matéria seca da raiz – MSR (D), volume de raiz – VR (E) e número de folhas/planta – NF (F) das cultivares Kottanadan e Bragantina, submetidas ao DH. DDH = dias de déficit hídrico

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$)

Barras verticais indicam erro padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Na interação entre fatores, letras minúsculas na vertical representam “cultivar”; letras maiúsculas na horizontal representam “DDH”.

Tabela 5: Avaliação dos parâmetros biométricos da cultivar Kottanadan, após 12 dias de déficit hídrico. MFPA (massa de matéria fresca da parte aérea), MSPA (massa de matéria seca da parte aérea), MFR (massa de matéria fresca da raiz), MSR (massa de matéria seca da raiz), VR (volume de raiz) e NF (número de folhas/planta).

DDH	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	MSR (g)	VR (mL)	NF/ planta
2	64,11 a	14,07 a	64,71 a	10,89 ab	56,67 a	26,11 a
4	62,94 a	13,57 a	64,66 ab	11,43 a	55,00 a	26,33 a
6	60,38 a	13,14 ab	64,08 ab	10,80 ab	53,33 a	24,33 a
8	56,46 a	12,54 abc	60,87 ab	10,17 ab	50,00 a	23,33 a
10	48,59 ab	10,82 bc	50,33 b	7,52 bc	46,67 ab	16,89 b
12	33,35 b	10,20 c	45,59 b	5,95 c	31,67 b	14,00 b

Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical, não diferem entre si, ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$), pelo teste de Tukey. DDH = dias de déficit hídrico

3.4. Fluorescência da Clorofila a

A interação dos fatores cv. e DH foi significativa ($p \leq 0,01$; $p \leq 0,05$) para todos os parâmetros avaliados.

Os valores das razões F_0/F_m e F_v/F_0 mantiveram-se constantes para a cv. Kottanadan ao longo do DH. No entanto, para a cv. Bragantina, F_0/F_m aumentou no 10º DDH e F_v/F_0 diminuiu à partir do 6º DDH (Figura 5 A,B). De maneira geral, aumentos significativos em ABS/RC foram observados à partir do 8º e 10º DDH, para as cvs. Kottanadan e Bragantina, respectivamente (Figura 5C). Os valores de TR_0/RC foram maiores para a cv. Kottanadan no 10º DDH. Entretanto, a severidade do tratamento não alterou o comportamento da cv. Bragantina (Figura 5D). Para o parâmetro ET_0/RC , observou-se diminuição dos valores no 10º e à partir do 8º DDH para Kottanadan e Bragantina, respectivamente (Figura 5E). O fluxo de dissipação de energia (DI_0/RC) aumentou à partir do 8º e 6º DDH para ambas as cultivares, Kottanadan e Bragantina, respectivamente (Figura 5F).

Quando a cv. Kottanadan foi analisada isoladamente, todos os parâmetros apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,01$), caracterizadas pelas alterações ocorridas no 12º DDH, exceto para TR_0/RC , o qual manteve-se invariável após 12 DDH ($p \geq 0,05$) (Tabela 6).

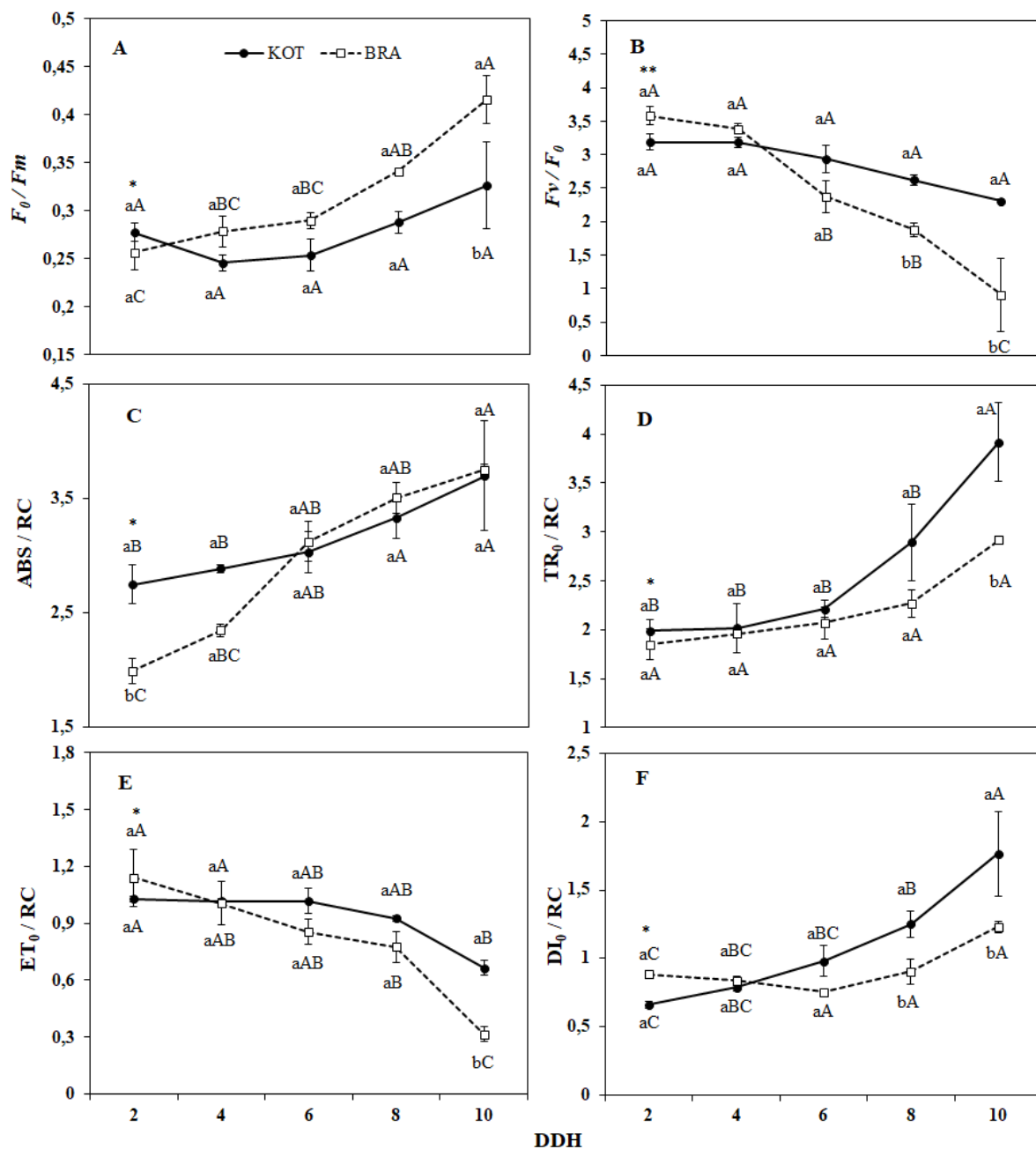


Figura 5: Variação nas razões F_0/F_m (A) e F_v/F_0 (B); Fluxo de absorção de energia por centro de reação (C); Fluxo de captura de energia por centro de reação (D); Fluxo de transporte de energia por centro de reação (E) e fluxo de energia dissipada por centro de reação (F) de plantas de pimenta-do-reino, cultivares kottanadan e Bragantina, submetidas ao DH.

DDH = dias de déficit hídrico

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$)

Barras verticais indicam erro padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na interação entre fatores, letras minúsculas na vertical representam “cultivar”; letras maiúsculas na horizontal representam “DH”.

Tabela 6: Efeitos do déficit hídrico (DH) sobre parâmetros do Teste JIP em folhas de pimenta-do-reino, cultivar Kottanadan.

DDH	F_0/F_m	F_v/F_0	ABS/RC	TR ₀ /RC	ET ₀ /RC	DI ₀ /RC
2	0,28 b	3,19 a	2,74 b	1,94 a	1,02 a	0,69 b
4	0,25 b	3,18 a	2,88 b	2,01 a	1,01 a	0,72 b
6	0,26 b	2,93 a	3,03 b	2,11 a	1,02 a	0,95 b
8	0,28 b	2,64 a	3,33 b	2,89 a	0,92 a	1,20 b
10	0,32 b	2,38 a	3,63 b	3,75 a	0,69 a	1,70 b
12	0,52 a	0,99 b	4,82 a	3,19 a	0,25 b	2,62 a

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si, ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$), pelo teste de Tukey. DDH = dias de déficit hídrico

3.5. Índice de desempenho: PI_{Total}

Houve diferença significativa para a interação entre os fatores cv. e DDH ($p \leq 0,05$) nas plantas de pimenta-do-reino submetidas ao DH. Os valores de PI_{Total} foram maiores para a cv. Kottanadan e não mostraram variação ao longo dos 10 dias de tratamento. Contrariamente, observou-se diminuição de PI_{Total} a partir do 8º DDH para a cv. Bragantina (Figura 6A).

A análise estatística realizada apenas para a cv. Kottanadan apresentou diferença significativa nos dias de DH ($p \leq 0,01$). Uma diminuição nos valores de PI_{Total} ocorreu à partir do 8º dia de tratamento (Figura 6B).

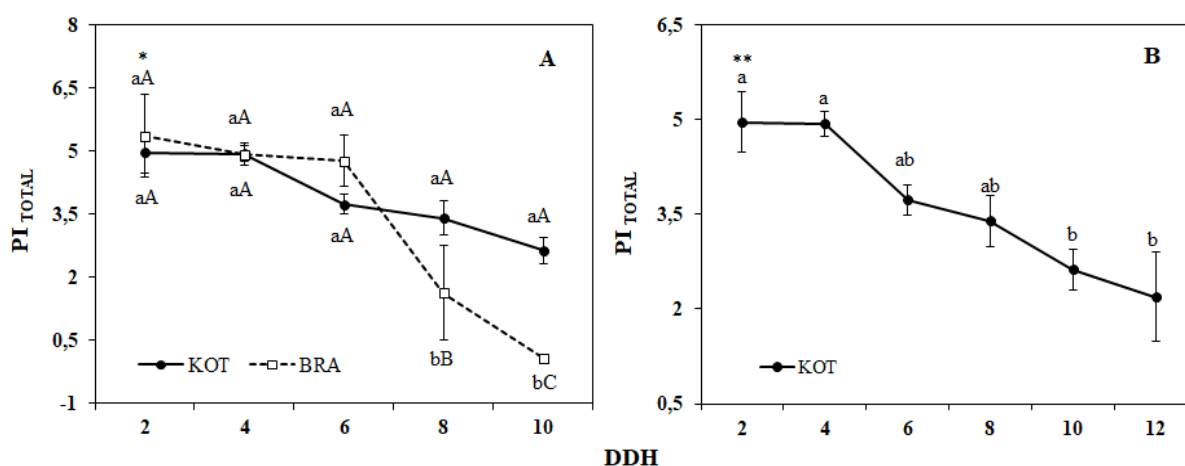


Figura 6: Índice de desempenho para a conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII para a redução dos aceptores finais do FSI, cultivares Kottanadan e Bragantina (A) e cultivar Kottanadan (B), após 10 e 12 DDH, respectivamente. DDH = dias de déficit hídrico

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$)

Barras verticais indicam erro padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.6. Eficiências quânticas ou rendimentos

Para os parâmetros ϕP_0 (eficiência quântica máxima do FSII), δR_0 (rendimento quântico de transporte de energia entre o FSII e FSI), ϕE_0 (Rendimento quântico da redução para os aceptores finais do FSI), ψE_0 (Probabilidade de um éxciton capturado mover um elétron para além da Q_A^-) e ϕR_0 (rendimento quântico de fótons absorvidos pelo FSII e transportados da água até os aceptores de elétrons do FSII), observou-se diferença significativa na interação cv. e DH ($p \leq 0,01$).

Em todos os parâmetros, a cv. Kottanadan mostrou valores maiores que os observados para a cv. Bragantina e sem variação até o 10º DDH (Figura 5 A,B,D,E), exceto para ϕE_0 , para o qual reduções significativas foram obtidas ao longo dos 10 dias de tratamento (Figura 5C). Para Bragantina, os menores valores nos rendimentos quânticos foram observados com o aumento da severidade do DH (Figura 5 A-C).

A Tabela 7 apresenta os resultados da análise estatística para a cv. Kottanadan, após 12 DDH. Em geral, os valores de ϕP_0 , δR_0 , ϕE_0 , ψE_0 e ϕR_0 diminuiram no último dia de tratamento.

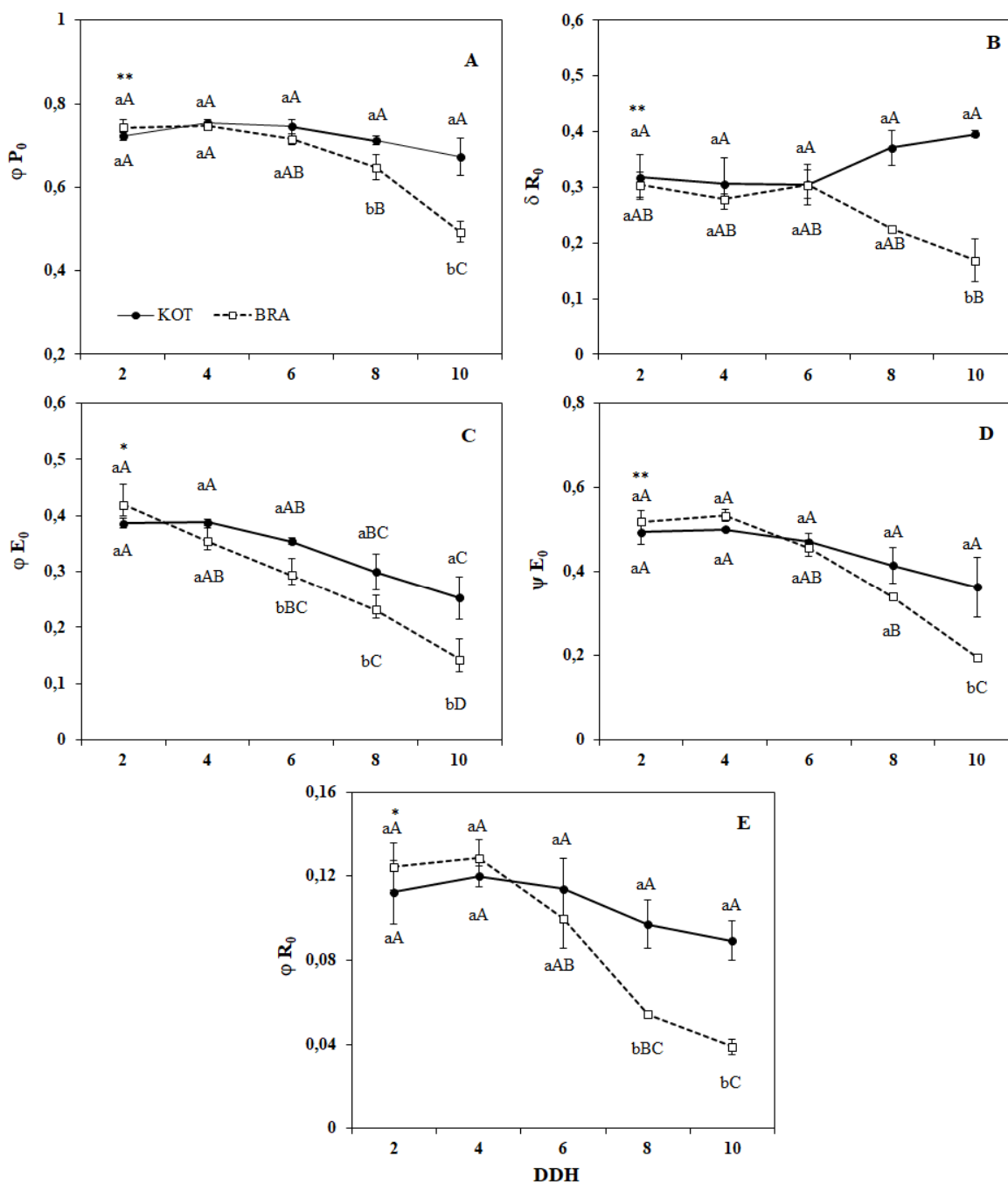


Figura 7: Rendimento quântico máximo do FSII (A); Rendimento quântico máximo de transporte de energia entre o FSII e FSI (B); Rendimento quântico da redução para os aceptores finais do FSI (C); Probabilidade de um éxciton capturado mover um elétron para além da Q_A^- (D); Rendimento quântico máximo de fótons absorvidos pelo FSII e transportados da água até os aceptores de elétrons do FSII (E), em duas cultivares de pimenta-do-reino, submetidas ao DH. DDH = dias de déficit hídrico

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$)

Barras verticais indicam erro padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 1% e 5% de probabilidade.

Na interação entre fatores, letras minúsculas na vertical representam “cultivar”; letras maiúsculas na horizontal representam “DH”.

Tabela 7. Rendimentos quânticos para a cultivar Kottanadan, após 12 DDH.

DDH	ϕP_0	δR_0	ϕE_0	ψE_0	ϕR_0
2	0,72 a	0,31 a	0,38 a	0,49 a	0,11 a
4	0,75 a	0,32 a	0,38 a	0,50 a	0,12 a
6	0,74 a	0,31 a	0,35 a	0,47 a	0,10 a
8	0,71 a	0,37 a	0,29 a	0,41 a	0,07 ab
10	0,67 a	0,39 a	0,25 a	0,37 a	0,09 ab
12	0,47 b	0,46 b	0,06 b	0,11 b	0,02 b

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), pelo teste de Tukey. DDH = dias de déficit hídrico

4. DISCUSSÃO

4.1. *Conteúdo Relativo de Água (CRA)*

Estudos evidenciam que plantas bem hidratadas apresentam valores de CRA entre 85 e 95%, mas, por outro lado, sob DH severo estes valores podem ser reduzidos abaixo de 40% (COCKERHAM e LEINAUER, 2011). De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a cv. Kottanadan mostrou valores de CRA acima de 40% em todos os dias de DH. Ao contrário, a cv. Bragantina apresentou diminuição dos valores à partir do 6º dia de tratamento (Figura 3A), mostrando-se abaixo do preconizado no 8º dia de tratamento (38% de CRA). Ao final da imposição ao déficit hídrico, as plantas apresentaram folhas com 59% de CRA para a Kottanadan e 22% de CRA para a Bragantina, quando comparadas às respectivas plantas controle. Uma diminuição do CRA em resposta ao déficit hídrico também foi observada em uma grande variedade de plantas por outros autores (NAYYAR e GUPTA, 2006; YANG e MIAO, 2010).

Os resultados apresentados na Figura 3B revelam que mesmo após 12 dias de DH, a cv. Kottanadan apresentou valores de CRA ($\approx 42\%$) acima dos referenciados por Cockerham e Leinauer (2011), evidenciando melhor capacidade de manutenção do *status* hídrico foliar. Infere-se que essa capacidade possa ser devido à presença de características morfológicas diferenciadas como paredes celulares mais lignificadas ou cutículas mais espessas para atuar no controle da perda de água (TAIZ e ZEIGER, 2013). Além disso, de acordo com Blum (2005), o CRA pode ser mantido em níveis elevados mesmo em condições severas de DH, desde que a planta apresente um eficiente mecanismo de ajuste osmótico.

4.2. *Pigmentos fotossintetizantes*

Para Kottanadan, nenhuma variação significativa na concentração para Chl *a*, razão Chl *a/b* e pigmentos carotenóides foi observada durante os 10 dias de tratamento (Tabela 1, Tabela 3). De acordo com O'Neill et al. (2006), a manutenção da razão Chl *a/b* está relacionada à melhor capacidade de tolerar a condição de deficiência hídrica, devido à estreita relação estabelecida entre clorofilas, potencial fotossintético e produtividade das plantas.

Em adição, de acordo com Egert e Tevini (2002), como mecanismo de proteção ao déficit hídrico, as plantas podem sintetizar moléculas com atividade antioxidante, como os pigmentos carotenóides, ascorbato, α -tocoferol, glutathione e flavonóides ou, ainda, aumentar a síntese de enzimas antioxidantes (peroxidases, superóxido dismutase e catalases). Assim, o fato da cv. Kottanadan não apresentar alteração significativa para Chl *a*, razão Chl *a/b* e carotenóides em todos os dias de DH, evidencia uma proteção contra a foto-oxidação. Shvaleva et al. (2006) também não encontraram variações nos pigmentos fotossintéticos em plantas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto-comum ou eucalipto da Tasmânia), submetidas à estresse hídrico com rega igual a 50% da transpiração. A quantidade de água fornecida foi calculada a partir da diferença de peso do pote entre as regas sucessivas. Todas as plantas foram irrigadas até o ponto de escoamento no primeiro, dia, e depois regadas duas vezes por semana, de acordo com o regime de tratamento, até completar 7 semanas.

Contrariamente, para a cv. Bragantina, a diminuição nas concentrações de Chl *a*, razão Chl *a/b* e carotenoides indicam alterações na atividade fotoquímica da planta (Tabela 3), como observado nos resultados apresentados nas Figuras 5 a 7. Apesar disso, os resultados apresentados na Tabela 2 revelam que os pigmentos Ch *b* e Chl *total* foram afetados pelo DH na mesma proporção em ambas as cultivares.

A avaliação da cv. Kottanadan após 12 DDH é mostrada na Tabela 4 e evidencia uma maior tolerância ao déficit hídrico, pois somente no dia 12 observa-se uma diferença significativa em relação ao dia 2 (controle) para as clorofilas *a*, *b* e total.

Uma diminuição na razão Chl *a/b* sugere que o complexo coletor de luz da membrana dos tilacóides é afetado pelo déficit hídrico (PARIDA et al. 2003), e conseqüentemente, reduz o fluxo de energia de transferência de elétrons na cadeia fotossintética (MURCHIE e HORTON, 1997). Neste estudo, reduções significativas no fluxo de energia para o transporte de elétrons, ET_0/RC foram observadas (Figura 5 E). Nesse sentido, as plantas da cv. Bragantina mostraram-se menos resistentes ao estresse. Outros autores também evidenciaram menor resistência das plantas em decorrência do DH, com reduções na concentração de clorofilas e pigmentos (PARIDA et al., 2007; GHOTBI-RAVANDI et al., 2014; MAGHSOUDI et al., 2015).

4.3. Parâmetros Biométricos

As plantas de pimenta-do-reino submetidas ao DH apresentaram características morfológicas típicas do estresse, incluindo a murcha e queda de folhas nos tratamentos mais severos (10 e 12 DDH). A taxa de sobrevivência das plantas, após 3 ciclos de DH, foi alta para Kottanadan (acima de 90%), porém, muito baixa para Bragantina (11%) (Figura 2).

Diante os resultados apresentados na Figura 4, é possível inferir que as alterações biométricas das cultivares são independentes dos tratamentos para a maioria dos parâmetros avaliados, com exceção para MFPA e VR.

A resposta das plantas ao déficit hídrico se manifesta geralmente de quatro formas: limitação no crescimento, adaptações morfológicas, adaptações fisiológicas e alterações metabólicas. As alterações morfológicas podem ser de simples aferição, como redução do tamanho da planta e da folha, abscisão foliar e redução da produtividade. Mas podem ser também mais complexas, como o aumento do volume do sistema radicular e redução da massa fresca e seca das diferentes partes da planta (parte aérea, frutos e caule) (TORRECILLAS et al., 1996). Essas alterações ocorrem, indiretamente, devido a uma série de mudanças fisiológicas, como a redução do conteúdo de água na folha (HETHERINGTON e WOODWARD, 2003), fechamento dos estômatos (ROYER, 2001), deposição de cera na cutícula (KERSTIENS, 2006), redução da fotossíntese (SRINIVASA et al., 2001) e produção de solutos orgânicos que protegem as plantas de estresses por meio de diferentes rotas metabólicas (BOHNERT e JENSEN, 1996).

De acordo com Larcher (2006), um dos processos fisiológicos mais sensíveis à deficiência hídrica é o crescimento celular, o qual afeta o crescimento das plantas. Por este motivo, a redução do crescimento é considerada a primeira e mais séria consequência da restrição hídrica nos vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2013). Entretanto, a extensão e a natureza dos efeitos do déficit hídrico nas plantas ocorrem em função da intensidade e da duração do estresse, bem como da capacidade genética das espécies em tolerar o estresse hídrico (DaMATTA et al., 1997; LARCHER 2006; DIAS et al., 2007).

A produção de massa de matéria seca da parte aérea e massa de matéria seca das raízes são variáveis que permitem inferir sobre a translocação orgânica, facilitando a compreensão do desempenho vegetal em termos de produtividade e a baixa disponibilidade hídrica pode implicar em reduções no acúmulo de matéria seca nessas regiões (SADRAS e MILROY, 1996). Nesse estudo, a redução da parte aérea, tanto fresca como seca observada

com o aumento do DH está correlacionada com a redução do número de folhas por planta (Figura 4 A,B,F) em ambas as cultivares de pimenta-do-reino.

De acordo com Bernier et al. (2008), plantas mais vigorosas sob condições de privação de água, teoricamente, apresentam mecanismos fisiológicos que permitem o seu desenvolvimento nessas condições. Contudo, a biomassa excessiva requer uma maior quantidade de água no solo devido à maior transpiração total da planta. Assim, a aceleração da senescência e da abscisão foliar sob condições de DH é um mecanismo que a planta utiliza para redução da área foliar, tendo como resultado direto a redução da transpiração (TAIZ e ZEIGER, 2013). Smit e Singels (2006) também relataram que a senescência foliar ocorre após a redução no surgimento das folhas. Essa redução é uma estratégia para diminuir a superfície de transpiração e o gasto metabólico para a manutenção dos tecidos (INMAN-BAMBER e SMITH, 2005; SMIT e SINGELS, 2006; INMAN-BAMBER et al., 2008). Entretanto, a manutenção de folhas verdes pode ser um indicativo de tolerância à seca. De fato, a senescência foliar e a paralisação do surgimento de folhas são respostas ao estresse promovido por deficiência hídrica dependentes do genótipo (SMIT e SINGELS, 2006).

Singh e Singh (2003), estudando os efeitos do DH em plantas jovens de *Dalbergia sissoo* Roxb. (Jacarandá), verificaram redução significativa na massa seca da parte aérea, raiz e total, de acordo com a severidade do estresse aplicado. Ao estudar as variáveis morfológicas de quatro cultivares de cana-de-açúcar expostas ao DH, Holanda et al. (2015), verificaram que as cultivares que apresentaram menor investimento no crescimento radicular foram as mais suscetíveis ao DH, corroborando com nossos resultados observados para a cv. Bragantina. Entretanto, de acordo com Freitas et al. (2005), plantas que apresentam grande produção de biomassa radicular são mais aptas a condições de estresse ambiental, por possuírem maior facilidade de sustentação, além de maior superfície e eficiência para absorção de água e nutrientes, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho para a cv. Kottanadan que não alterou o volume de raiz (VR) após 10 DDH (Figura 4 C-E). Por outro lado, a diminuição do crescimento da parte aérea acompanhada pela relativa alocação de massa seca nas raízes é indicativo de uma estratégia adaptativa para diminuir a desidratação durante o período de DH (KOOYERS, 2015; WAGHORN et al., 2015).

4.4. Parâmetros técnicos do Teste-Jip e fluxos específicos por centro de reação

Segundo Roháček (2002), um aumento da razão F_0/F_m , produção quântica basal do processo não-fotoquímico no FSII, é indicativo de estresse e sugere, ainda, que valores normais em torno de 0,14 e 0,20 são comumente descritos na literatura para este parâmetro. Os resultados apresentados nesse estudo revelam que em todos os tratamentos de DH os valores da razão F_0/F_m foram maiores do aqueles sugeridos por ROHÁČEK (2002), principalmente no 10º DDH para a cv. Bragantina, uma vez que para a cv. Kottanadan, nenhuma alteração foi observada ao longo dos dias de déficit hídrico. Este resultado evidencia a inferioridade da cv. Bragantina no que se refere à razão F_0/F_m (Figura 3A).

Outro fato a ser observado é que o aumento dessa relação se deve, consequentemente, ao aumento ocorrido em F_0 e/ou redução em F_m (dados não-mostrados), o que resulta no aumento da razão F_0/F_m . De acordo com Baker (2008), o aumento de F_0 revela destruição do centro de reação do FSII (P680) ou diminuição na capacidade de transferência da energia de excitação da antena ao FSII. Por outro lado, a diminuição da F_m caracteriza deficiência na fotorredução da quinona A (Q_A), que pode estar associada à inativação do FSII nas membranas dos tilacóides, afetando diretamente o fluxo de elétrons entre os fotossistemas (STRASSER et al., 2004). Assim, a perda de atividade do FSII nos dias mais susceptíveis ao DH, provavelmente, está associada à diminuição da capacidade de reoxidação das quinonas, resultando em menor eficiência no transporte de elétrons para o FSI (DE LAS RIVAS e BARBER, 1997). Em nossos resultados, observou-se aumento de F_0/F_m somente para a cv. Bragantina, sugerindo que a severidade do DH resultou em uma menor capacidade fotossintética. Maghsoudi et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes, quando avaliaram o comportamento de cultivares de trigo na presença e ausência de água. Maiores valores de F_0/F_m foram observados nas plantas submetidas ao DH. Outros estudos corroboram com nossos resultados (BAKER e ROSENQVIST, 2004; OHASHI et al., 2006; HABIBI e HAJIBOLAND, 2013).

Por conseguinte, uma redução significativa na razão F_v/F_0 para a cv. Bragantina sugere uma aparente mudança na taxa de transporte de elétrons do FSII ao acceptor primário de elétrons em condições de DH (Figura 3B). Essa mudança pode ser devido a aumentos na fluorescência inicial (F_0). Tal comportamento pode ser atribuído a um aumento no número de CRs inativos, baixa transferência ou bloqueio de energia entre os sistemas

antena até os CRs do FSII devido à dissociação entre o complexo do sistema antena e o núcleo do FSII, ou a inativação do complexo de evolução do oxigênio (CEO) (De ELL et al. 1999; GHOTBI-RAVANDI et al., 2014). Adicionalmente, uma diminuição na razão F_v/F_0 é indicativo de um declínio na taxa fotoquímica, à medida que o pool de aceptores primários de elétrons se oxida, ou uma redução do tamanho do pool desses aceptores de elétrons associados à atividade do FSII (KRAUSE e WEISS, 1991). Nossos resultados revelaram diminuição de F_v/F_0 à partir do 6º DDH para a cv. Bragantina. Por outro lado, nenhuma alteração significativa para a cv. Kottanadan foi observada, reforçando as diferenças na sensibilidade das cultivares ao déficit hídrico. Resultados semelhantes foram observados por Meng et al. (2012) e Wu e Bao (2011) em estudos com cultivares de trigo oriundas de regiões de clima seco e de clima úmido. Os autores registraram reduções significativas em F_v/F_0 em ambas as cultivares submetidas ao DH, porém, em menor intensidade para a cultivar de clima seco, considerada mais tolerante ao DH.

Com o aumento do DH, os valores de ABS/RC aumentaram no 8º e 10º DDH, para as cvs. Kottanadan e Bragantina, respectivamente (Figura 3C). Aumentos da razão ABS/RC, definida como uma medida aparente do tamanho da antena, podem significar (1) que uma fração de CR está inativa, por exemplo, sendo transformada em centros não-redutores de Q_A ou (2) um aumento no tamanho da antena funcional, que fornece energia de excitação para os CRs ativos, (YUSUF et al., 2010; REDILLAS et al., 2011). ABS/RC é calculado como o número total de fótons absorvidos pelas moléculas de clorofila nos CRs dividido pelo número total de CRs ativos, sendo influenciado por variações na razão de CRs ativos/inativos (STRASSER e STRASSER, 1995; MEHTA et al., 2010). Nossos resultados corroboram com os de Gomes et al. (2012), Guha et al. (2013) e Falqueto et al. (2017), os quais descreveram valores altos de ABS/RC para cultivares e clones de maracujá (*Passiflora edulis* Sims), morango e seringueira (*Hevea brasiliensis* L.) após 5, 10 e 28 dias de suspensão hídrica, respectivamente. Os autores atribuíram os aumentos em ABS/RC à menor sensibilidade ao déficit hídrico.

A cascata de energia começa a partir da absorção (ABS) por pigmentos da antena no FSII e termina na redução dos aceptores finais de elétrons no lado acceptor do FSI. Os fluxos de energia intermediários são o fluxo de captura (TR), definido como o fluxo de energia que leva à redução da feofitina (Pheo) e Q_A , e o fluxo de transporte de elétrons (ET) que se refere ao transporte de elétrons além da Q_A^- (STRASSER et al., 2010). No presente estudo, o comportamento dos fluxos de energia para a captura (TR_0/RC), o transporte (ET_0/RC) e para a dissipação (DI_0/RC) também variou ao longo dos DDH, com

a cv. Kottanadam apresentando maior eficiência comparativamente à cv. Bragantina (Figura 3D-F).

Segundo Öquist et al. (1992) e Strasser et al. (2004), a inativação dos CRs favorece o aumento da dissipação de energia por CR (DI_0/RC). Isto ocorre porque a energia não está sendo direcionada ao transporte de elétrons (ET_0/RC), passando, então a ser dissipada na forma de calor (DI_0/RC), a despeito do aumento nos valores do fluxo de absorção (ABS/RC) e de captura de energia (TR_0/RC).

Nossos resultados mostram comportamento semelhante entre as cultivares, embora a cv. Bragantina não tenha apresentado variação em TR_0/RC após 10 dias de tratamento (Figura 3 D), indicando que uma maior quantidade de CRs ativos está sendo responsável pela captura de energia de excitação absorvida. Por outro lado, os resultados obtidos para a cv. Kottanadan estão de acordo com aqueles descritos por Jiang et al. (2008), trabalhando com *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. Tuyou (laranja comum), submetidas a tratamento com alumínio, e STRASSER et al. (2010), trabalhando com *Haberlea rhodopensis* submetidas ao déficit hídrico. O autores evidenciaram elevações em TR_0/RC em plantas sob estresse, indicando que uma menor quantidade de CRs ativos estão sendo responsáveis pela captura da energia de excitação que é absorvida.

Aumentos em DI_0/RC estão diretamente relacionados a conversão de CRs redutores em CRs dissipadores, transformando-se em um mecanismo de fotoproteção do FSII (STRASSER et al., 2004). Dessa forma, aumentos na dissipação de energia na forma de calor e decréscimos significativos na eficiência de transporte de elétrons para as reações redox além da QA ($\psi E_0 = (ET_0/TR_0)$) atuam como um mecanismo de fotoinibição (STRASSER et al., 1995; JIANG et al., 2008). Diante o exposto, nossos resultados sugerem que tal mecanismo de prevenção de danos ao aparato fotossintético não se aplica à cv. Bragantina, uma vez que os valores de Fv/Fm (ϕP_0) diminuíram à medida que aumentou o DH (Figura 5A). O comportamento desse e de outros parâmetros aqui apresentados sugerem um processo fotoinibitório crônico para a cv. Bragantina, ocorrendo a redução da eficiência fotoquímica do FSII devido à danos que tendem a ser irreversíveis. Esses danos causam a fotodestruição de estruturas como a proteína D1 nos CRs e destruição dos pigmentos fotossintéticos (KRAUSE e SOMERSALO, 1989) principalmente os carotenoides (Tabela 3). Os resultados apresentados na Tabela 7 para a cv. Kottanadan após 12 DDH reiteram a maior tolerância ao DH em relação à cv. Bragantina. Embora tenha apresentando diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nos parâmetros

avaliados aos 12 DDH, a porcentagem de sobrevivência das plantas foi alta (Figura 2) e permaneceram fotossinteticamente ativas (dados não mostrados).

4.5. Índice de desempenho: PI_{Total}

O índice de desempenho PI_{Total} é o parâmetro mais sensível do teste JIP, pois incorpora vários outros parâmetros que são avaliados na fluorescência transiente OJIP (YUSUF et al., 2010; MEHTA et al., 2010), como por exemplo, o rendimento quântico máximo da fotoquímica primária, ϕP_0 (usando F_0 e F_m), a probabilidade de mover um elétron além do QA -, ψE_0 (usando V_J), a probabilidade com que um elétron se move do intersistema dos aceptores de elétrons reduzidos para o acceptor final de elétrons do FSI, δR_0 (usando V_J e V_I), e a relação RC/ABS (usando ϕP_0 , V_J e a inclinação inicial do OJIP). Portanto, qualquer alteração no transiente da OJIP é expressa em PI_{Total} , enquanto F_v/F_m é sensível apenas à relação F_0/F_m (YUSUF et al., 2010; STRASSER et al., 2004; STRASSER et al., 2000).

PI_{Total} reflete, não necessariamente, o desempenho de toda a planta, o qual é governado por mecanismos muito mais complexos. No entanto, em vários estudos sobre estresse, encontrou-se uma forte correlação entre os parâmetros PI_{Total} e os parâmetros fisiológicos, como o crescimento da planta ou a taxa de sobrevivência (STRASSER et al., 2007; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008). Em nossos resultados, a cv. Kottanadan apresentou alta porcentagem de sobrevivência em relação à Bragantina, considerando 12 DDH (Figura 2), indicando alta capacidade dessa cultivar em suportar esse tipo de estresse.

De acordo com Oukarroum et al. (2007), um pronunciado decréscimo no CRA (Figura 3) está relacionado com os dados do índice de desempenho (PI), corroborando com os resultados do presente estudo (Figura 6). A cv. Kottanadan não apresentou alteração no PI_{Total} após 10 dias de imposição ao DH e seus valores de CRA permaneceram acima do limite mínimo preconizado (Figura 6A e Figura 3A).

Contrariamente, a cv. Bragantina apresentou diminuição nos valores de PI_{Total} já no 8º DDH (Figura 6A), valores reduzidos de CRA (Figura 3A) e baixa taxa de sobrevivência (Figura 2). Uma diminuição ou um aumento de PI_{Total} expressa perda ou ganho na capacidade de conservação de energia, respectivamente (YUSUF et al., 2010). Dessa maneira, podemos observar que as cultivares de pimenta-do-reino avaliadas neste estudo apresentam comportamentos diferentes em relação à conservação de energia. Mesmo

quando a cv. Kottanadan foi analisada isoladamente (Figura 6B), observou-se que a redução nos valores de PI_{Total} aos 12 DDH foi menor à observada na cv. Bragantina aos 10 DDH. GUHA et al. (2013), observaram que um aumento em ABS/RC , DI_0/RC , associada à redução de ϕE_0 e ϕR_0 , causou diminuição dos índices de desempenho (PI 's), ao expor plantas de amora (*Morus spp.*) à 10 DDH.

Outros autores também avaliaram o índice de desempenho das plantas (YUSUF et al., 2010; OUKARROUM et al., 2007; CHEN et al., 2010; XIANG et al., 2013; FALQUETO et al., 2017).

4.6. Eficiências quânticas ou rendimentos

Os resultados desse estudo apontam para uma maior habilidade da cv. Kottanadan em manter elevados níveis de ϕP_0 sob déficit hídrico (Figura 5A), o que, segundo Tester e Bacic (2005) pode ser um indicativo de maior eficiência no uso da radiação pela fotoquímica e, conseqüentemente, de maior assimilação de carbono. Entretanto, a diminuição do parâmetro ϕP_0 (razão Fv/Fm) é um indicador de efeito fotoinibitório quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse e pode representar tanto uma regulação fotoprotetora reversível ou uma inativação irreversível do FSII (STRASSER et al., 1995). Neste estudo, alterações no FSII foram observadas para a cv. Bragantina, uma vez que houve diminuição de ϕP_0 à partir do 6° DDH (Figura 5A). Resultados semelhantes foram observados por Ghotbi-Ravandi et al. (2014), quando analisaram o comportamento do FSII em duas cultivares de cevada (*Hordeum vulgare* L., cv. Morocco e Yousof), submetidas ao DH. Os valores de ϕP_0 diminuíram drasticamente na cultivar Morocco e ficaram próximos aos valores de plantas tratadas com lincomicina, um inibidor da síntese de proteínas nos cloroplastos. De acordo com os autores, esses resultados indicam que o DH acelera a inibição do FSII, uma vez que a inibição da síntese de proteínas inibe os mecanismos de reparo do fotossistema.

Até o 10° DDH, nenhuma variação nos valores de δR_0 , ψE_0 e ϕR_0 e pequenas variações em ϕE_0 foram observados para a cv. Kottanadan. Embora uma diminuição nestes parâmetros tenha sido observada no 12° DDH nesta cultivar, o processo fotoquímico não foi totalmente alterado (Figura 7; Tabela 7).

Por outro lado, para a cv. Bragantina, valores reduzidos dos parâmetros foram observados à medida que o DH aumentou. De maneira geral, alterações no processo fotoquímico iniciaram-se aproximadamente ao 6° dia de tratamento. Apesar dos aumentos

observados em ABS/RC e em TR₀/RC com o DH, os valores do fluxo de energia para o transporte de elétrons (ET₀/RC) foram reduzidos, diminuindo ϕE_0 , ou seja, o rendimento quântico para o transporte de elétrons no FSII. A probabilidade de um éxciton capturado mover um elétron além da QA⁻ (ψE_0) também foi reduzida. Diminuições em ϕE_0 e ψE_0 indicam que o DH inibiu as reações luminosas primárias e as reações independentes de luz após a QA⁻ devido à interrupção no fluxo de elétrons até os aceptores do FSI (XIANG et al., 2013). Esses efeitos foram observados com maior intensidade para a cv. Bragantina (Figura 7 A-E).

Silvestre et al. (2014), estudando leguminosas sensíveis e tolerantes ao déficit hídrico, observaram que para os genótipos tolerantes, os valores de TR₀/RC e ET₀/RC foram mantidos próximos às condições controle, permitindo uma grande eficiência na movimentação de elétrons para a cadeia de transporte de elétrons (CTE). Por outro lado, os genótipos considerados sensíveis apresentaram menores valores para ϕE_0 e ψE_0 quando submetidos ao DH. Esta tendência também foi observada para os outros parâmetros estudados, sugerindo um baixo desempenho fotossintético e uma alta suscetibilidade do genótipo *Lathyrus aphaca* em condições de DH, assim como observado para a cv. Bragantina.

Chen et al. (2015), avaliando o comportamento de *Ageratina adenophora* (erva-daninha), *Digitaria sanguinalis* (grama comum), *Arabidopsis thaliana* – suscetíveis - e *Gossypium barbadense* (algodão) e *Nicotiana tabacum* (tabaco) – tolerantes, submetidas ao herbicida ácido tenuazônico, concluíram que os parâmetros ϕE_0 e ψE_0 das espécies suscetíveis diminuíram consideravelmente na presença do herbicida. Os autores sugerem que o tratamento resultou num acúmulo rápido de QA⁻ nos centros de reação do FSII, mostrando um aumento de V_J (Fluorescência variável relativa em 2 ms) devido ao bloqueio do fluxo de elétrons do FSII além QA⁻. Sob estresse por alumínio (Al), reduções nos rendimentos (δR_0 , ϕR_0) e no fluxo ET₀/RC foi descrita em *Citrus*, danificando todas as reações redox fotoquímica e não-fotoquímica, indicado pelos decréscimos em PI_{ABS} e PI_{Total} (JIANG et al.; 2008). Estes resultados estão de acordo com os descritos neste trabalho, principalmente para a cv. Bragantina, para a qual reduções significativas desses parâmetros foram observados à medida que aumentava o DH (Figura 5E, Figura 6A, Figura 7 A,E).

De acordo com Xiang et al. (2013), a diminuição do rendimento quântico para a redução dos aceptores finais de elétrons do fotossistema I por fóton absorvido (ϕR_0) e a

eficiência com que um elétron pode mover-se do intersistema dos aceptores de elétrons reduzidos para o receptor final de elétrons do FSI (δR_0) indica alteração no lado acceptor do FSI. Nossos resultados corroboram com esses autores. A cv. Bragantina apresentou diminuição nos valores de ϕR_0 e δR_0 a partir do 4° e 10° DDH, respectivamente (Figura 5 B,E). Contrariamente, não houve variação desses parâmetros para a cv. Kottanadan após 10 DDH.

Por fim, podemos inferir que o déficit hídrico não comprometeu o aparato fotossintético das plantas da cv. Kottanadan, uma vez que todos os parâmetros analisados mantiveram-se sem alterações até o 8° DDH. Entretanto, os resultados apresentados na Tabela 7 demonstram que alterações nos rendimentos quânticos ocorreram após 12 DDH.

5. CONCLUSÕES

As cultivares de pimenta-do-reino avaliadas diferiram entre si nas respostas ao déficit hídrico.

A cv. Kottanadan foi tolerante a 12 DDH considerando a análise dos parâmetros biométricos, associada à maior porcentagem de sobrevivência e CRA, e menores alterações fotoquímicas das plantas.

Redução nos valores de CRA, nos pigmentos fotossintéticos e alterações nos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* indicaram susceptibilidade da cv. Bragantina ao déficit hídrico.

Fotoinibição crônica foi evidenciada pela diminuição de ϕP_0 , δR_0 , ϕR_0 , ϕE_0 e ψE_0 , para a cv. Bragantina.

A cv. Bragantina foi suscetível a 10 DDH, apresentando 10% de sobrevivência e 22% de CRA.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1–15, 1949.
- BAKER, N.R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BAKER, NR.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1607–21, 2004.
- BARRS, H.D., WEATHERLEY, P.E. A Re-Examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficits in Leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 15, p. 413-28, 1962.
- BERNIER, J. et al. Breeding upland rice for drought resistance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 6, p. 927-939, 2008.
- BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential - are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56, p. 1159-1168, 2005.
- BOHNERT, H.J.; JENSEN, R.G. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 89-97, 1996.
- BRAY, EA. Molecular responses to water deficit. **Plant Physiology**, v. 103, p. 1035-1040, 1999)
- CAMBRAIA, J. Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: NOGUEIRA, R.A.; WILLADINO, L.G. (Eds.) **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**, Recife: UFRPE, cap. 2, p. 95-105, 2005.
- CHEN, S.; KANG, Y.; ZHANG, M.; WANG, X.; STRASSER, R.J.; ZHOU, B.; QIANG, S. Differential sensitivity to the potential bioherbicide tenuazonic acid probed by the JIP-test based on fast chlorophyll fluorescence kinetics. **Environmental and Experimental Botany**, v. 112, p. 1-15, 2015.
- CHEN, SG.; YING, CY., QIANG, S., ZHOU, F.Y., DAI, XB. Chloroplastic oxidative burst induced by tenuazonic acid, a natural photosynthesis inhibitor, triggers cell necrosis in *Eupatorium adenophorum* Spreng. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1797, p. 391–405, 2010.
- COCKERHAM, S.T., LEINAUER, B. Turfgrass Water Conservation, University of California. **Agriculture and Natural Resources**, Davis, Calif, USA, 2011.
- DaMATTA, FM.; MAESTRI, M.; MOSQUIM, PR.; BARROS, RS. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C. canephora*) as affected by winter and summer conditions. **Plant Science**, v. 128, p. 43-50, 1997.

- De ELL, J.R.; van KOOTEN, O.; PRANGE, R.K.; MUN, D.P. Applications of chlorophyll fluorescence techniques in postharvest physiology. **Horticultura Review**, v. 23, p. 69-107, 1999.
- DE LAS RIVAS, J.; BARBER, J. Structure and thermal stability of photo system II reaction centers studied by infrared spectroscopy. **Biochemistry**, v. 36, p. 8897-8903, 1997.
- DIAS, P.; ARAUJO, WL.; MORAES, GA.; BARROS, RS.; DaMATTA, FM. Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 12, p. 1639-1647, 2007.
- EBERHARD, S.G.; FINAZZI, F.; WOLLMAN, A. The dynamics of photosynthesis. **Annual Review of Genetic**, v. 42, p. 463-515, 2008.
- EGERT, M.; TEVINI, M. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, n. 1, p. 43-49, 2002.
- FALQUETO, A.R.; SILVA JUNIOR, R.A.; GOMES, M.T.G.; MARTINS, J.P.R.; SILVA, D.M.; PARTELLI, F.L. Effects of drought stress on chlorophyll *a* fluorescence in two rubber tree clones. **Scientia Horticulturae**, v. 224, p. 238-243, 2017.
- FAROOQ, M. et al. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. In: LICHTFOUSE, E. et al. (Eds). **Sustainable Agriculture**, p. 153-188, 2009.
- FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 564-570, 2002.
- FREITAS, TAS.; BARROSO, DG.; CARNEIRO, JGA.; PENCHEL, RM.; LAMÔNICA, KR.; FERREIRA, DAF. Desempenho radicular de mudas de eucalipto produzidas em diferentes recipientes e substratos. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 853-861, 2005.
- GHOTBI-RAVANDI, A.A.; SHAHBAZI, M.; SHARIATI, M. et al. Effects of mild and severe drought stress on photosynthetic efficiency in tolerant and susceptible barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. **Journal Agronomy Crop Science**, v. 200, p. 403-415, 2014.
- GOMES, M.T.G.; da LUZ, A.C.; dos SANTOS, M.R. et al. Drought tolerance of passion fruit plants assessed by the OJIP chlorophyll *a* fluorescence transient. **Science Horticulture**, Amsterdam, v. 142, p. 49-56, 2012.
- GUHA, A.; SENGUPTA, D., REDDY, AR. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence kinetics and leaf protein analyses to track dynamics of photosynthetic performance in mulberry during progressive drought. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 119, p. 71-83, 2013.
- HABIBI, G.; HAJIBOLAND, R. Alleviation of drought stress by silicon supplementation in pistachio (*Pistacia vera* L.) plants. **Folia Horticulturae**, v. 25, p. 21-29, 2013.

- HETHERINGTON, A.M.; WOODWARD, F.I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, v. 424, n. 24, p. 901- 908, 2003.
- HOLANDA, L.A.; SANTOS, C.M.; SAMPAIO NETO, G.D.; SOUSA, A.P.; SILVA, M.A. Morphological variables of sugarcane as a function of the water regime during initial development. **Irriga**, v. 19, n. 4, p. 573-584, 2015.
- INMAN-BAMBER, NG. et al. Increasing sucrose accumulation in sugarcane by manipulating leaf extension and photosynthesis with irrigation. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 59, p. 13-26, 2008.
- INMAN-BAMBER, NG., SMITH, DM. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v. 92, p. 185-202, 2005.
- JALEEL, C.A.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A. et al.: Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 11, p. 100-105, 2009.
- JESUS, S.V.D.; MARENCO, R.A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazônica**, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.
- JIANG, H.X.; CHEN, L.S.; ZHENG, J.G. et al. Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in Citrus leaves assessed by the chlorophyll *a* fluorescence transient. **Tree Physiology**, v. 28, p. 1863-1871, 2008.
- KERSTIENS, G. Water transport in plant cuticles: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 11, p. 2493-2499, 2006.
- KOOYERS, N.J. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. **Plant Science**, v. 234, p. 155-62, 2015.
- KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 42, p. 313-349, 1991.
- KRAUSE, GH.; SOMERSALO, S. Fluorescence as a Tool in Photosynthesis Research: Application in Studies of Photoinhibition, Cold Acclimation and Freezing Stress. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 323, p. 281-93, 1989.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: **RIMA**, 2000. 531p.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.
- LIMA, M.E.; CARVALHO, D.F.; SOUZA, A.P.; ROCHA, H.S.; GUERRA, J.G.M. Desempenho do cultivo da berinjela em plantio direto submetida a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 604-610, 2012.

- MAGHSOUDI, K.; EMAM, Y.; ASHRAF, M. Influence of foliar application of silicon on chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and growth in water-stressed wheat cultivars differing in drought tolerance. **Turkish Journal of Botany**, v. 39, p. 625-634, 2015.
- MARTINAZZO, E.G.; SILVA, D.M.; BIANCHI, V.J.; BACARIN, M.A. Fluorescência da clorofila a em plantas de pessegueiro da cultivar maciel enxertada sobre diferentes porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 678-685, 2012.
- MEHTA, P.; JAJOO A, MATHUR, S. et al. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 16–20, 2010.
- MENG, Z.Q.; SONG, F.P.; LIU, Z.X.; ZHANG, F.K. Effects of drought and rewatering at seedling stage on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in rapeseed. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, v. 34, n. 1, p. 40-47, 2012.
- MOHAWESH, O.; AL-ABSI, K. Physiological response of two apple genotypes to different water regimes under semiarid conditions. **Advances in Horticultural Science**, v. 23, n. 3, p. 158-165, 2009.
- MURCHIE, E.H.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: Chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. **Plant, Cell and Environmental**, v. 20, p. 438-448, 1997.
- NAYYAR, H.; GUPTA, D. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 58, p. 106-113, 2006.
- O'NEILL, P.M.; SHANAHAN, J.F.; SCHEPERS, J.S. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. **Crop Science**, v. 46, p. 681-687, 2006.
- OHASHI, Y.; NAKAYAMA, N.; SANEOKAI, H.; FUJITA, K. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. **Biological Plant**, v. 50, p. 138–141, 2006.
- ÖQUIST, G.; CHOW, W.S.; ANDERSON, J.M. Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. **Planta**, v. 186, p. 450–60, 1992.
- OUKARROUM, A.; MADIDI, S.E.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R.J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 438-46, 2007.
- PARIDA, AK.; DAGAONKAR, VS.; PHALAK, MS.; UMALKAR, GV.; AURANGABADKAR, LP. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. **Plant Biotechnology Report**, v.1, p. 37-48, 2007.

- PARIDA, A.K.; DAS, A.B.; MITTRA, B. Effects Of NaCl Stress On The Structure, Pigment Complex, Composition, And Photosynthetic Activity of Mangrove *Bruguiera Parviflora* Chloroplasts. **Photosynthetica**, v. 41, n. 2, p. 191-200, 2003.
- PREZOTTI, L.C.; GOMES, J.A.; DADALTO, G.G.; OLIVEIRA, J.D. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo**: 5ª edição. Vitória: SEEA/Incaper/Cedagro, 305. 2007.
- REDILLAS, MCFR.; STRASSER, R.J.; JEONG, J.S.; KIM, Y.S.; JU, K. The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. **Plant Biotechnol Reports**, v.5, p. 169–75, 2011.
- ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. **Photosynthetica**, v. 40, p. 13-29, 2002.
- ROYER, D.L. Stomatal density and stomatal index as indicators of paleoatmospheric CO₂ concentration. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 114, n. 2, p. 1-28, 2001.
- SADRAS, V.O.; MILROY, S.P. Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: a review. **Field Crop Research**, v. 47, p. 253-266, 1996.
- SHVALEVA, A.L.; SILVA, F.C.E.; BREIA, E.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J.F.; ALMEIDA, M.H.; MAROCO, J.P.; RODRIGUES, M.L.; PEREIRA, J.S.; CHAVES, M.M. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. **Tree Physiology**, v. 26, n. 2, p. 239-48, 2006.
- SILVA, F.A.Z.; AZEVEDO, C.A.V. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture 7 Reno-NV-USA: **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, 2009.
- SILVESTRE, S.; ARAÚJO, S.S.; VAZ PATTO, M.C.; MARQUES DA SILVA, J. Performance index: an expeditious tool to screen for improved drought resistance in the *Lathyrus* genus. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, n. 7, p. 610–621, 2014.
- SINGH, B.; SINGH, G. Biomass partitioning and gas exchange in *Dalbergia sissoo* seedlings under water stress. **Photosynthetica**, v.41, n.3, p.407-414, 2003.
- SMIT, M.A.; SINGELS, A. The response of sugarcane canopy development to water stress. **Field Crops Research**, v. 98, p. 91-97, 2006.
- SRINIVASA RAO, N.K.; BHATT, R.M.; SADASHIVA, A.T. Tolerance to water stress in tomato cultivars. **Photosynthetica**, v. 38, n. 3, p. 465-467, 2001.
- STRASSER, B.J.; STRASSER, R.J. Measuring fast fluorescence transient to address environmental questions: The JIP-test. In: Mathis, P. (Ed.); **Photosynthesis: from Light to Biosphere**. Springer Netherlands. p. 977-980, 1995.
- STRASSER, R.J.; MICHAEL, M.T.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient. In: GOVINDJE G.P. (Ed.); **Advances in Photosynthesis and Respiration Chlorophyll Fluorescence a Signature of Photosynthesis**. Kluwer Academic Publishers. p. 321-362, 2004.

- STRASSER, R.J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescent transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P. (Eds.), **Probing Photosynthesis: Mechanisms, regulation and adaptation**, p. 445-483, 2000.
- STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; DANGRE, D.; RAI, M. Biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of Mycorrhization with *Piriformospora indica*, In: VARMA A.; OELMÜLER, R. (Eds.), **Advanced Techniques in Soil Microbiology, Soil Biology**. Berlin Heidelberg, p. 319-341, 2007.
- STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; QIANG, S.; GOLTSEV, V. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. **BBA-Bioenergetics**, 1997, p. 1313–1326, 2010.
- SUASSUNA, J.F.; MELO, A.S.; COSTA, F. S.; FERNANDES, P.D.; FERREIRA, R.S.; SOUSA, M.S.S. Eficiência fotoquímica e produtividade de frutos de meloeiro cultivado sob diferentes lâminas de irrigação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1251-1262, 2011.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. São Paulo, 2013.
- TESTER, M.; BACIC, A. Abiotic Stress Tolerances in Grasses. Form Model Plants To Crop Plants. **Plant Physiology**, v. 137, p. 791–793, 2005.
- TORRECILLAS, A.; ALARCÓN, J.J.; DOMINGO, R. et al. Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. **Plant Science**, v. 118, p. 135–43, 1996.
- TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R.J. In vivo assessment of plants' vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants, in: VARMA, A. (Ed.), **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco- Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**, 3ª edição. Dordrecht: Springer, p. 679–703, 2008.
- WAGHORN, M.J.; WHITEHEAD, D.; WATT, M.S.; MASON, E.G.; HARRINGTON, J.J. Growth, biomass, leaf area and water-use efficiency of juvenile *Pinus radiata* in response to water deficits. **New Zealand Journal of Forestry Science**, v. 45, n. 3, p. 1-11, 2015.
- WILSON, P.J.; THOMPSON, K.; HODGSON, J.G. Specific leaf area and dry leaf matter content as alternative predictors of plant strategies. **The New phytologist**, v. 143, p. 155–162, 1999.
- WU, X.; BAO, W. Leaf Growth, Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence Parameters in Response to Different Water Deficits in Wheat Cultivars. **Plant Production Science**, v. 14, n. 3, p. 254-259, 2011.
- XIANG, M., CHEN, S., WANG, L., DONGA, Z., HUANGA, J., ZHANGA Y., STRASSER, R.J. Effect of vulculic acid produced by *Nimbya alternantherae* on the photosynthetic apparatus of *Alternanthera philoxeroides*. **Plant Physiology and Biochemistry**. V. 65, p. 81-88, 2013.

- YANG, F.; MIAO, L.F. Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. **Silva Fennica**, v. 44, p. 23-37, 2010.
- YORDANOV, I., VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance, **Photosynthetica**, v. 38, p. 171–186, 2000.
- YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R. et al. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1797, p. 1428–38, 2010.

**CAPÍTULO 3 - Efeito do Silício, Fosfito e Quitosana sobre os componentes
epidemiológicos da fusariose na pimenta-do-reino**

Verônica D'Addazio^{1*} • Adriano Alves Fernandes² • Marcelo Barreto da Silva² • Antelmo
Ralph Falqueto²

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais,
Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal,
CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo,
Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, CEP 29932-900, São Mateus, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: veronicaddazio@yahoo.com

Periódico a ser submetido ou submetido: a ser definido

RESUMO

A fusariose da pimenta-do-reino ou podridão das raízes é causada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e ocasiona consideráveis perdas na produção. Este estudo teve como objetivos (1) avaliar a resistência de duas cultivares de pimenta-do-reino inoculadas com o patógeno, (2) avaliar o efeito de diferentes produtos no controle da fusariose e (3) avaliar a época de aplicação desses produtos, analisando os componentes epidemiológicos da doença. O experimento foi realizado em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 3 fatores e 4 controles e as avaliações foram feitas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software Genes 3.1. Plantas de pimenta-do-reino com 4 meses de idade foram transplantadas para vasos com capacidade para 5L de solo, onde foram aclimatadas até completarem 6 meses de idade, quando iniciou-se aplicação dos produtos. Os produtos Silício, Fosfito e Quitosana foram adicionados aos vasos 30 e 15 dias antes da inoculação (aplicação preventiva) e 15 e 30 dias após a inoculação (aplicação curativa). A cada 15 dias após a inoculação, foram calculados a incidência, a severidade e o período de incubação da doença. Aos 180 dias após a inoculação (DAI), obteve-se a curva de progresso e a área abaixo da curva, além do índice de infecção da doença.

Os produtos Fosfito e Silício, aplicados preventivamente e curativamente, promoveram alterações no desenvolvimento da doença, reduzindo significativamente o índice de infecção, a área abaixo da curva, incidência e severidade, aumentando o período de incubação e controlando a fusariose para a cultivar Kottanadan. A cultivar Bragantina foi mais suscetível à doença que a Kottanadan e não respondeu diferenciadamente aos tratamentos aplicados.

Palavras-chave: Controle alternativo • *Fusarium solani* f. sp. *piperis* • *Piper nigrum* • resistência • susceptibilidade •

ABSTRACT

The fusariosis or root rot of black pepper is caused by the fungus *Fusarium solani* f. sp. *piperis* and causes considerable losses in production. This study had as objectives (1) to evaluate the resistance of two black pepper cultivars inoculated with the pathogen, (2) to evaluate the effect of alternative products in controlling the fusariosis and (3) to evaluate the time of application of these products, by analyzing the epidemiological components of the disease. The experiment was performed under greenhouse conditions following a randomized block design (RBD), with 3 factors and 4 controls. The evaluations were made using the grouping test of Scott-Knott. All data were submitted to analysis of variance (ANOVA) using Genes 3.1 software. Four-months-old black pepper plants were transplanted in 5-L pots (one plant per pot), and acclimated until six-months-old, when the products were applied. The products Silicon, Phosphite and Chitosan were added in each pot 30 and 15 days before the inoculation (preventive application) and 15 and 30 days after the inoculation (curative application). The incidence, severity and incubation period of the disease were calculated every 15 days after inoculation. At 180 day after inoculation (DAI), it was obtained the disease progress curve, the area under the disease progress curve and the infection rate.

Phosphite and Silicon, applied preventively and curatively, promoted changes in disease development, significantly reducing the infection rate, the area under the disease curve, the disease incidence and severity increasing the incubation period and controlling the fusariose in the Kottanadan pepper cultivar. The cultivar Bragantina was more susceptible to the disease than Kottanadan and no differential response to the treatments applied was observed.

Keyword: Alternative control • *Fusarium solani* f. sp. *piperis* • *Piper nigrum* • resistance • susceptibility •

1. INTRODUÇÃO

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), originária da Índia, é uma planta perene, semi-lenhosa e trepadeira. O gênero *Piper* pertence à classe das Eudicotiledôneas, ordem *Piperales* e família *Piperacea* (EMBRAPA, 2004).

A cultura da pimenta-do-reino foi introduzida no Brasil pelos portugueses durante o período colonial e ganhou importância comercial a partir da década de 30, quando começou a ser cultivada por imigrantes japoneses na região de Tomé-Açu, no estado do Pará (DUARTE et al., 2016). O Brasil oscila entre o terceiro e quarto maior produtor mundial da especiaria com uma produção anual em 48 mil toneladas em 2015 (IBGE, 2015). O crescimento da produção de pimenta-do-reino alcançou 29,8% em relação ao ano anterior, havendo destaque também para a produção no Espírito Santo, segundo maior produtor do País, com participação estimada em de 44,8% no total a ser produzido (IBGE, 2017). O consumo dessa especiaria no Brasil é pequeno (10%), sendo a maior parte da produção exportada principalmente para os Estados Unidos, México, Argentina e Europa (IBGE, 2013).

Apesar da importância da pipericultura no cenário regional, nacional e internacional, ainda faltam conhecimentos que garantam a produção sustentável e econômica da cultura (SILVA et al. 2011). Mesmo a fusariose, doença capaz de inviabilizar o cultivo da pimenta nas lavouras infestadas, ainda carece de estudo sobre variedades resistentes, métodos alternativos de controle e manejo integrado. Tal situação compromete o futuro da produção da pimenta-do-reino, que é o terceiro item na pauta de exportação do Estado (SEAG, 2014).

O *Fusarium* é um importante componente da fitopatologia mundial. O grande número de espécies pertencentes a este gênero evidencia a diversidade de habitats nos quais elas podem sobreviver. Dentro de cada espécie de *Fusarium* pode haver ainda uma subdivisão ou *formae speciales* patogênicas ou não-patogênicas, ambas abrigadas em solos naturais ou cultivados, onde podem permanecer saprofiticamente, por longo período de tempo no solo (EDEL et al., 1997). O agente causal da fusariose em pimenta-do-reino é o *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. emend. Syd. & Hans. f. sp. *piperis*, Albuquerque (Telemorfo *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque) (DUARTE et al., 2005).

Dessa forma, a fusariose tornou-se o principal problema fitossanitário da pipericultura brasileira (HOMMA, 1998; DUARTE e ALBUQUERQUE, 2005), uma vez que apresenta sintomas em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, não havendo retrocesso da doença ou cura após a infecção. Uma lavoura sadia possui um ciclo produtivo de 12 anos, mas reduz drasticamente para 5 a 6 anos de produção devido ao ataque da doença, o que compromete a manutenção da produção (TRINDADE e POLTRONIERI, 1997; LEMOS et al., 2011). No Estado do Espírito Santo, a doença foi detectada há cerca de 30 anos e ocorre em toda região produtora (VENTURA e MILANEZ, 1983).

A intensidade da fusariose é influenciada por fatores como temperatura, umidade, plantio em solos arenosos, presença de nematóides, ocorrência de pH baixo e adubação com baixo teor de potássio, além da falta de resistência do hospedeiro (SANTOS, 2008).

No patossistema *Piper nigrum* x *Fusarium*, a infecção ocorre especialmente no período chuvoso, quando a umidade relativa do solo é alta. Temperaturas em torno de 22-24°C favorecem o desenvolvimento de sintomas na raiz e na parte aérea (SCHERM e YANG, 1996). Entretanto, os sintomas característicos do patógeno aparecem durante o ano todo. Outros fatores também contribuem para o aparecimento da doença como o excesso de nitrogênio e o estresse hídrico. Lavouras mais velhas são importantes focos de disseminação do patógeno. A doença, geralmente, inicia-se em reboleira, podendo evoluir posteriormente para todo o pimental, tornando-o economicamente inviável (VENTURA e COSTA, 2004).

O modo de penetração do fungo nas raízes ainda não foi completamente elucidado. Provavelmente, acontece de forma direta, ou seja, a penetração ocorre durante a germinação de clamidósporos ou macroconídios, que entram em contato com o sistema radicular das plantas como ocorre no patossistema *Fusarium* x *Glycine max* (XING e WESTPHAL, 2006).

De acordo com Trindade e Poltronieri (1997) e Ventura e Costa (2004), a infecção de *F. solani* em pimenta-do-reino pode ocorrer nas raízes ou nos ramos.

Os patógenos de incidência radicular, como os causadores da fusariose, coevoluiram com as plantas por milhões de anos e estão altamente adaptados ao ambiente subterrâneo em associação com o hospedeiro (BRUEHL, 1987). Este fato, aliado a sua sobrevivência por períodos muito longos no solo e à falta de cultivares comerciais com resistência satisfatória, torna o seu controle difícil. Além disso, devido à infecção inicial e ao desenvolvimento subsequente das doenças ocorrerem, na maioria das vezes, abaixo do

nível do solo, patógenos radiculares são comparativamente inacessíveis à manipulação direta do homem e as doenças frequentemente não são notadas até que atinjam estádios bem avançados, quando as opções de controle tornam-se limitadas (WHEELER e RUSH, 2001).

Até o momento, não há tratamento químico eficaz contra o *Fusarium*, nem tampouco cultivares de pimenta-do-reino resistentes à fusariose (TREMACOLDI, 2010). Entretanto, métodos ou produtos alternativos têm sido parcialmente testados visando o aproveitamento de suas atividades antibióticas (fungicidas e fungistáticas) no controle de doenças de plantas.

A busca por métodos/produtos alternativos de manejo das doenças, em substituição aos métodos convencionais, vem aumentando nos últimos anos, em decorrência dos efeitos nocivos que os defensivos agrícolas provocam ao meio ambiente e à saúde humana. Assim, os estudos para controle da fusariose com uso de métodos alternativos, são concernentes com as estratégias da agricultura moderna e vão em direção aos interesses econômicos e ecológicos.

Produtos alternativos têm sido testados para o controle das principais doenças de plantas (SILVA e PEREIRA, 2008; FERREIRA et al., 2009; PINTO et al., 2010; SILVA, 2011; ACCIOLY et al., 2012; CAIXETA et al., 2012). Para a maioria dos produtos do mercado, ainda não existem estudos científicos que comprovem sua efetividade no controle da fusariose da pimenta do reino.

O silício tem sido testado como uma alternativa para o controle de várias doenças em plantas e tem mostrado resultados promissores. Os sintomas da mancha-aquosa do meloeiro, causada pela bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* foram significativamente reduzidos em doses altas de SiO₂ (FERREIRA, 2009). Em bananeira, a aplicação de diferentes doses de silício mostrou eficácia no combate ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (ACCIOLY et al., 2012).

Da mesma forma, o efeito de diferentes concentrações de fosfito sobre o crescimento micelial e esporulação dos fungos (*Colletotrichum lindemuthianum*, *Pseudocercospora griseola*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*) tem sido parcialmente investigado, com resultados contraditórios. Enquanto houve ação inibitória do fosfito de potássio sobre *C. lindemuthianum* e *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*, reduzindo significativamente o crescimento micelial e a esporulação dos respectivos patógenos, *Pseudocercospora griseola* e *Sclerotinia sclerotiorum* foram insensíveis ao fosfito de potássio em todas as dosagens testadas (CAIXETA et al., 2012). O fosfito também foi

utilizado como uma alternativa de controle para a podridão de colo e raízes do maracujazeiro resultante da infecção por causada pelo fungo *Fusarium solani*, apresentando um bom nível de inibição do crescimento micelial do fungo em condições in vitro (SILVA, 2011).

Outra medida para o manejo da fusariose é o uso de fontes de matéria orgânica (hidrolisado e emulsão de peixe, carapaça de crustáceos e quitosana). A quitosana é a forma desacetilada da quitina formando um polímero biodegradável. Entretanto, em estudos realizados com crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* L.), o uso de quitosana para o controle de *Fusarium* gerou resultados variáveis, não sendo possível o estabelecimento de uma resposta padrão (PINTO et al., 2010). Por outro lado, a infecção por *Fusarium* foi efetivamente suprimida em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) com o uso de hidrolisado de peixe (MATTOS, 2007; VISCONTI, 2008). Por fim, o controle biológico da doença, por meio de microorganismos (bactérias endofíticas) também foi realizado por Benchimol et al. (2000).

Este estudo teve como objetivos (1) avaliar a resistência de duas cultivares de pimenta-do-reino inoculadas com o patógeno, (2) avaliar o efeito de diferentes produtos no controle da fusariose e (3) avaliar a época de aplicação desses produtos, analisando os componentes epidemiológicos da doença.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Material vegetal e cultivo*

Mudas de pimenta-do-reino, cultivares (cv.) Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), com 4 meses de idade, foram obtidas do Viveiro Pingo de Ouro (Córrego do Giral, Jaguaré-ES), credenciado pelo Registro Nacional de Sementes e Mudas - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RENASSEM). As mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 5L e tutoradas em estacas de madeira medindo 2 cm² x 1m de comprimento. Todos os vasos foram devidamente colocados sob pallets de madeira para evitar contato direto com o solo ambiente.

O desenvolvimento das plantas ocorreu em viveiro, com sombrite à 50%, situado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES/UFES). Neste período, as plantas foram irrigadas diariamente e nos meses mais quentes, a irrigação foi feita duas vezes ao dia. Três vezes por semana, as plantas foram irrigadas com 100 mL de solução nutritiva 2 com 100% de força iônica (adaptado de Fernandes et al., 2002). Esse procedimento foi realizado até as plantas completarem 6 meses de idade, quando iniciou-se a aplicação dos produtos de controle da fusariose. Após a aplicação dos produtos, as plantas receberam 50 mL de solução nutritiva, duas vezes por semana, até o fim do experimento, por 6 meses (ANEXO 5).

As plantas foram podadas em corte bisel, entre o quarto e quinto ramo plageotrópico, para estimular a brotação lateral e formação da copa.

2.2. *Tratamento do solo*

O solo utilizado para o cultivo das plantas foi retirado da Fazenda experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES) e classificado como Planossolo Háplico, franco argilo arenoso, fase relevo plano (NICOLE, 2014).

A solarização foi baseada em GHINI (2004) e realizada por um período de 3 meses. A calagem foi feita de acordo com a recomendação da análise de solo. Para a adubação do m³ de solo foi utilizado 3,12kg CaNO₃, 2,3kg NH₄H₂PO₄, 750g KCl, 400g MgSO₄, 39g CuSO₄, 92g H₃BO₃, 91g MnSO₄ e 340mg ZnSO₄ (Adaptado de PREZOTTI et al, 2007).

2.3. Produtos alternativos de controle da fusariose

A fonte de fosfito utilizada foi Fosetyl-Al (Bayer[®]) e seguiu a dose recomendada para a cultura do café, correspondendo a 2,0 kg de produto comercial/hectare (1000 plantas). De acordo com a Embrapa (2004), 1 hectare de pimenta-do-reino corresponde a 1600 plantas.

A fonte de silício foi o Silicato de Cálcio (Aldrich Chemistry[®]), e a dose recomendada foi de 1g/kg de solo (ACCIOLY et al. 2012). Silício e fosfito foram diluídos em água destilada para serem adicionados aos vasos em três pontos previamente marcados ao redor do coleto da planta. Os produtos foram aplicados utilizando-se uma seringa com volume de 10 mL.

A dose de Quitosana (Fagron[®]) utilizada foi de 1g/kg de solo (baseada em PINTO et al., 2010 e BENCHIMOL et al. 2006). Por ser insolúvel em água, sua adição aos vasos foi na forma de pó, em três pontos previamente marcados ao redor do coleto da planta.

Os produtos foram adicionados aos vasos em duas aplicações: antes da inoculação do fungo (preventivo) e após a inoculação (curativo). A aplicação dos produtos preventivamente ocorreu 30 e 15 dias antes da inoculação e a aplicação curativa foi realizada 15 e 30 dias após a inoculação.

Os controles positivo (sem inoculação) e negativo (com inoculação) não receberam os produtos.

2.4. Material biológico e cultivo

Foi utilizado o isolado de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* CML 2466, da Coleção Micológica de Lavras, Universidade Federal de Lavras – MG. O fungo foi mantido em placas de Petri contendo o meio BDA (Batata Dextrose Ágar), à 4°C. Para a inoculação, discos de 5 mm da cultura pura foram transferidos para placas de Petri, contendo o mesmo meio. As placas foram incubadas à 25°C em B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), com fotoperíodo de 12h, por 15 dias.

De acordo com Vaz (2013), o nível de patogenicidade do isolado CML 2466 é 9, baseado na escala de notas proposta por Ventura (2010, não publicado) (Tabela 1).

Tabela 1: Escala de notas para avaliação da fusariose em *Piper nigrum*, causada por *F. solani* f. sp. *piperis*.

Nota	Descrição
1	Sem sintomas perceptíveis
2	Sintomas muito leves no ponto de inoculação (lesão <5 mm)
3	Algumas folhas cloróticas, lesões nos entrenós (5-15 mm)
4	Folhas com clorose (lesão 15-20 mm)
5	Plantas com sintoma de murcha e clorose (lesão 20-25 mm)
6	Clorose e murcha das folhas e ramos; pode ocorrer queda dos entrenós (lesão 25-30 mm)
7	Clorose, murcha e necrose limitada em cerca de 50% das folhas e queda dos entrenós (lesão 30-35 mm)
8	Sintomas severos ocorrem à queda dos entrenós (lesão >35 mm)
9	Sintomas de desfolha severa, clorose e murcha em 75% das folhas ou mais. Plantas mortas

Fonte: José Aires Ventura, 2010, não publicado.

2.5. Suspensão de esporos

A suspensão de esporos de *F. solani* foi preparada pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada a cada placa contendo o fungo, sendo estas raspadas com alça de Drigalsky, para uma eficiente extração dos esporos. A Contagem de esporos foi realizada em Câmara de Neubauer e a suspensão foi ajustada para uma concentração de 10^8 esporos por mL⁻¹.

2.6. Inoculação dos vasos

Um volume de 10 ml da suspensão de esporos na concentração citada foi adicionado a cada vaso, próximo ao coleto das plantas. Aos vasos do tratamento controle positivo foi adicionado 10 ml de água destilada esterilizada (ANEXO 6).

2.7. Curva de progresso da doença e parâmetros relacionados

A curva de progresso da doença foi realizada, utilizando-se os valores de incidência e severidade da doença, avaliados a cada quinze dias, até 180 dias após inoculação (DAI).

A incidência e a severidade da fusariose na pimenta-do-reino foram avaliadas em todas as plantas. A incidência foi determinada pela porcentagem de plantas com sintomas

da doença em relação ao total de plantas avaliadas, enquanto a severidade foi estimada pela porcentagem de área ou volume de tecido vegetal doente (ALFENAS e MAFIA 2016), com o auxílio de uma escala de notas para isolados de *F. solani* patogênicos à *Piper nigrum* (VENTURA, 2010, não publicado) (Tabela 1).

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi calculada por meio da equação (CAMPBELL & MADDEN, 1990):

$$AACPD = \frac{\sum_{i=1}^{n-1} Y_i + 1 + Y_{i+1} + 1}{2} \times (T_{i+1} - T_i)$$

Onde:

AACPD: Área abaixo da curva de progresso da doença;

Y_i = Proporção da doença na i -ésima repetição;

T_i = Tempo em dias na i -ésima observação;

n = Número total de observações.

A taxa de progresso da doença (R) foi calculada de acordo com Campbell & Madden (1990), baseado na fórmula:

$$R = (1/t) \times \ln(X/X_0)$$

Onde:

t = tempo decorrente entre a primeira e última avaliação (dias);

\ln = logaritmo natural;

X = severidade da doença na última avaliação (%);

X_0 = severidade da doença na primeira avaliação (%).

O período de incubação foi calculado pelo número de dias entre a inoculação e o surgimento dos sintomas da doença em 50% das plantas inoculadas (Bergamin Filho et al, 1995).

O índice de infecção, aos 180 DAI, foi calculado de acordo com McKinney (1923) pela fórmula:

$$IDO = \frac{\sum (\text{grau da escala} \times \text{frequência}) \times 100}{\text{número total de unidades} \times \text{grau máximo da escala}}$$

utilizando-se os dados de severidade da doença, estimada com o auxílio de escala de notas de 0 a 9 (Tabela 1), descrita por Ventura, 2010 (não publicado) e Abawi e Pastor-Corrales (1990).

Após a finalização do experimento, o patógeno foi reisolado com o intuito de completar o Postulado de Koch (ANEXO 7).

2.8. Delineamento experimental

O experimento foi realizado em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 3 fatores e 4 controles. O primeiro fator representado pelas cultivares (cv.) Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), o segundo fator representado pelos produtos silício, fosfito e quitosana (Si, Fos e Qui) e o terceiro fator representado pela época de aplicação: preventiva (P) e curativa (C). Apesar dos tratamentos serem compostos por 3 fatores e seus respectivos níveis, a análise em esquema fatorial limitaria a comparação com os controles positivo e negativo para cada cultivar. Assim, na análise de variância, desconsiderou-se os efeitos dos fatores e suas interações e, no desdobramento da mesma, realizou-se teste de agrupamento de Scott-Knott. Foram utilizadas 3 repetições, totalizando 48 parcelas, com 10 plantas por parcela (Figura 1). Para o estudo das relações entre as variáveis, foram realizadas análises de correlação linear de Pearson (r). A significância das correlações foi analisada pelo teste “t” de Student em nível de 5% de probabilidade. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software Genes 3.1 (CRUZ, 2016).

Bloco 1	Fos-P (KOT)	Qui-C (KOT)	Qui-P (BRA)	CN (BRA)	Si-P (BRA)	Qui-C (BRA)	CP (KOT)	Si-C (BRA)
	CP (BRA)	Si-P (KOT)	Fosf-C (KOT)	Fos-P (BRA)	Si-C (KOT)	CN (KOT)	Fos-C (BRA)	Qui-P (KOT)
Bloco 2	Qui-P (KOT)	Si-C (KOT)	Si-P (BRA)	CN (KOT)	Fos-C (BRA)	Fos-P (KOT)	CP (BRA)	Qui-C (BRA)
	CP (KOT)	Fos-P (BRA)	Qui-C (KOT)	Qui-P (BRA)	Si-C (BRA)	CN (BRA)	Fos-C (KOT)	Si-P (KOT)
Bloco 3	Fos-C (BRA)	Si-P (KOT)	CP (KOT)	Qui-P (KOT)	Si-C (BRA)	Fos-P (BRA)	CN (BRA)	Si-C (KOT)
	Si-P (BRA)	CN (KOT)	Qui-C (BRA)	Fos-C (KOT)	Qui-P (BRA)	CP (BRA)	Qui-C (KOT)	Fos-P (KOT)

Figura 1: Disposição dos tratamentos em viveiro, localizado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES).

KOT – Kottanadan; Bra – Bragantina

CP – controle positivo (sem inóculo); CN – controle negativo (com inóculo)

Fos-P = fosfito preventivo; Si-P = silício preventivo; Qui-P = quitosana preventivo

Fos-C = fosfito curativo; Si-C = silício curativo; Qui-C = quitosana curativo

3. RESULTADOS

3.1. Curvas de progresso da doença

As curvas de progresso da fusariose em plantas de pimenta-do-reino, cultivadas em viveiro, estão representadas na Figura 2. De um modo geral, houve diferença sobre o progresso da doença nas plantas das cv. Kottanadan e Bragantina, tratadas previamente e curativamente com Si, Fos e Qui. Os componentes epidemiológicos, baseados na incidência e severidade da doença, foram analisados estatisticamente e são apresentados ao longo dos resultados.

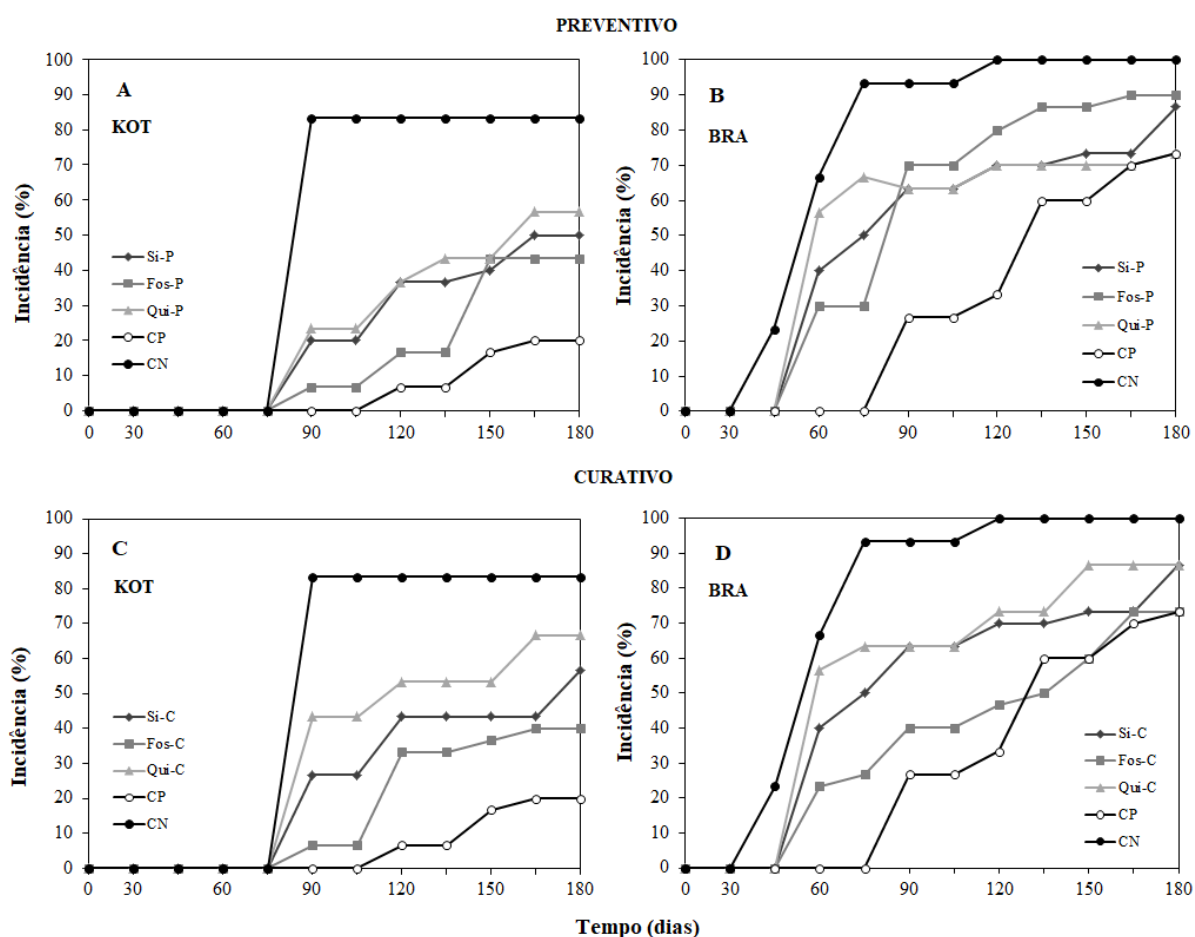


Figura 2: Curva de progresso da fusariose, aos 180 DAI, em plantas suplementadas com Silício (Si), Fosfóforo (Fos) e Quitosana (Qui), antes e após a inoculação. CP - controle positivo e CN - controle negativo. A e B - tratamento preventivo (P); C e D - tratamento curativo (C). KOT - Kottanadan; BRA - Bragantina.

3.2. Incidência e Severidade da doença

Aos 180 DAI, incidência da doença (ID) variou entre 20% e 100% e mostrou diferença estatística ($p \leq 0,01$) entre os tratamentos. Menor ID foi observada para a cv. Kottanadan, nos tratamentos Qui-P (57%), Si-C (57%) Si-P (50%), Fos-P (43%), e Fos-C (37%). No entanto, o tratamento Qui-C apresentou maior ID (67%). Embora não inoculado, o controle positivo (CP) apresentou sintomas da doença (20%). A cv. Bragantina apresentou ID acima de 70% em todos os tratamentos e nos controles positivo (CP) e Negativo (CN) (Figura 3).

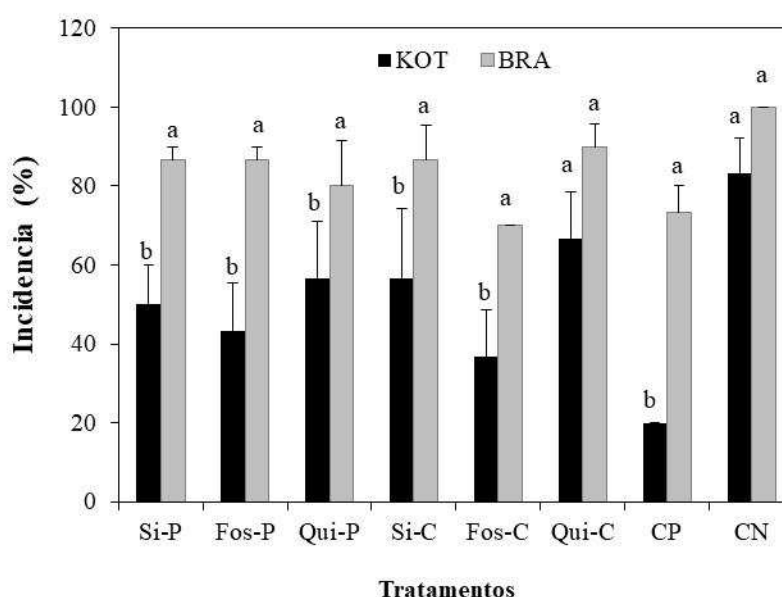


Figura 3: Incidência (%) de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* em pimenta-do-reino, aos 180 DAI em plantas tratadas com Silício (Si), Fosfóforo (Fos) e Quitosana (Qui), preventivamente (P) e curativamente (C). CP - controle positivo e CN - controle negativo. KOT - Kottanadan; BRA - Bragantina. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

A severidade da fusariose também foi avaliada aos 180 DAI e apresentou variações ao longo da escala de notas (Figura 4). Assim, como nos resultados para incidência da doença (Figura 3), observou-se a menores notas de severidade para a cv. Kottanadan em todos os tratamentos bem como nos controle positivo e negativo. Os dados com as médias estatísticas estão representados na Tabela 2.

As plantas com nota 1 são aquelas sem sintomas visíveis de doença. A cv. Kottanadan apresentou melhores resultados que a Bragantina, em todos os tratamentos. As plantas que receberam notas 2, 3, 4 e 5 não diferiram estatisticamente entre os tratamentos, em ambas as cultivares.

Observou-se ausência de plantas da cv. Kottanadan com as notas 6, 7, 8 e 9, exceto para o tratamento Si-P e CN. Entretanto, de modo geral, as maiores severidades da doença foram observadas para a cv. Bragantina, com notas acima de 6, representando 59,6% de plantas doentes (Figura 4; Tabela 2).

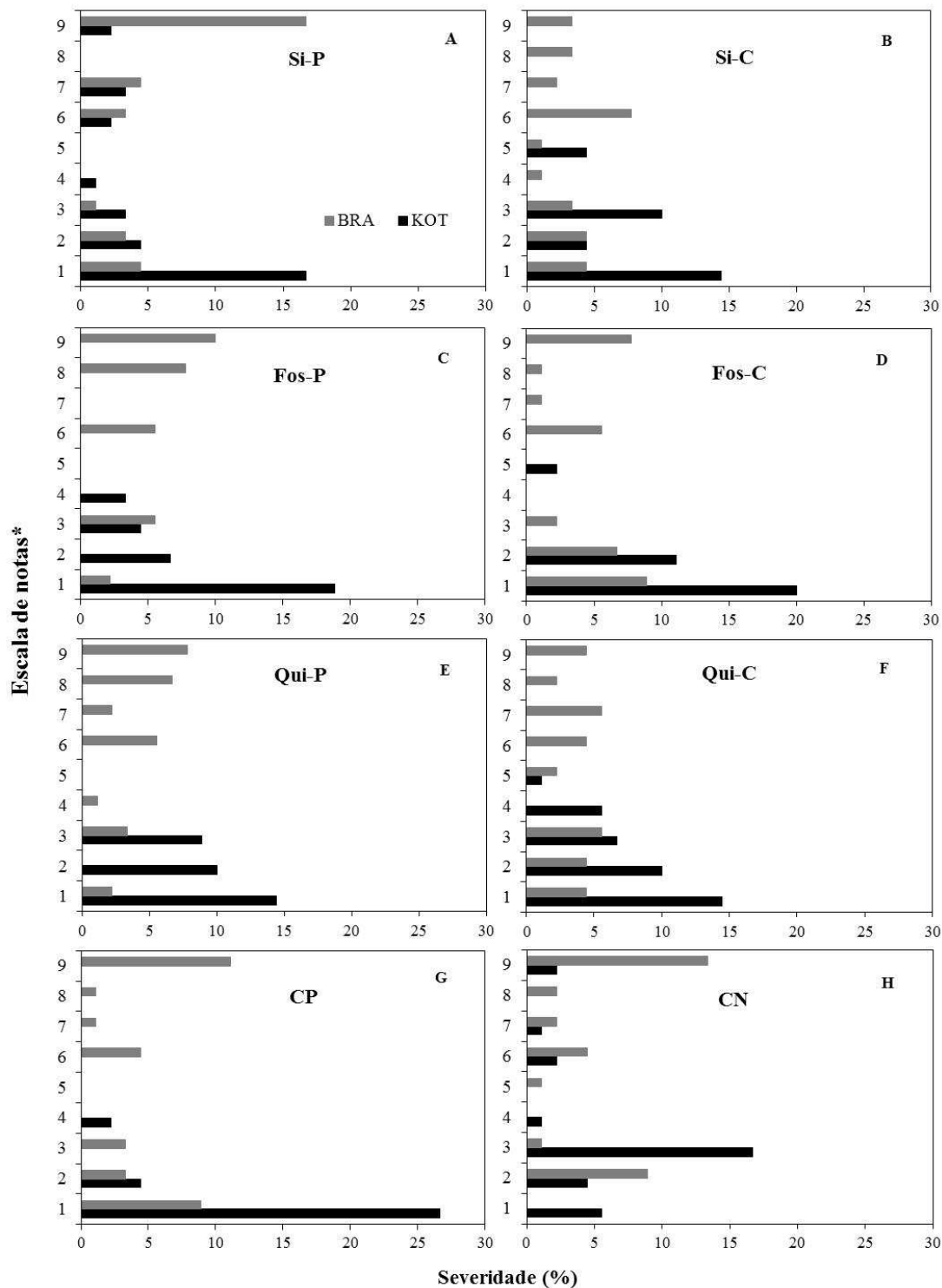


Figura 4: Efeito do Si (Silício), Fos (Fosfito) e Qui (Quitossana), em duas épocas de aplicação (preventiva – P e curativa – C) na severidade de *F. solani* em duas cultivares de pimenta-do-reino. KOT - Kottanadan; BRA – Bragantina.

*Escala de notas: Ventura, 2010 (não publicado) (Tabela 1)

Tabela 2: Efeito do Silício, Fosfito e Quitosana (preventivo – P; curativo – C) na severidade de *F. solani* em pimenta-do-reino.

		Severidade de <i>F. solani</i> (%)								
Notas		1**	2 ^{n.s.}	3 ^{n.s.}	4 ^{n.s.}	5 ^{n.s.}	6*	7*	8**	9**
KOT	Si-P	16.7 a	4.4	3.3	1.1	-	2.2 b	3.3 a	-	2.2 b
	Fos-P	18.9 a	6.7	4.4	3.3	-	-	-	-	-
	Qui-P	14.4 a	10.0	8.9	-	-	-	-	-	-
	Si-C	14.4 a	4.4	10.0	-	4.4	-	-	-	-
	Fos-C	20.0 a	11.1	-	-	2.2	-	-	-	-
	Qui-C	14.4 a	10.0	6.7	5.6	1.1	-	-	-	-
	CP	26.7 a	4.4	0.0	2.2	-	-	-	-	-
	CN	5.6 b	4.4	16.7	1.1	-	2.2 b	1.1 b	-	-
BRA	Si-P	4.4 b	3.3	1.1	-	-	3.3 a	4.4 a	-	16.7 a
	Fos-P	2.2 b	-	5.6	-	-	5.5 a	-	7.8 a	10.0 a
	Qui-P	2.2 b	-	3.3	1.1	-	5.5 a	2.2 a	6.7 a	7.8 a
	Si-C	4.4 b	4.4	3.3	1.1	1.1	7.8 a	2.2 a	3.3 b	3.3 b
	Fos-C	8.9 b	6.7	2.2	-	-	5.6 a	1.1 b	1.1 b	7.8 a
	Qui-C	4.4 b	4.4	5.6	-	2.2	4.4 a	5.6 a	2.2 b	4.4 b
	CP	8.9 b	3.3	3.3	-	-	4.4 a	1.1 b	1.1 b	11.1 a
	CN	-	8.9	1.1	-	1.1	4.4 a	2.2 a	2.2 b	13.3 a

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p \leq 0,01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$)

^{n.s.} não significativo

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott.

(-) ausência de plantas com essa nota. Notas (Tabela 1)

3.3. Área abaixo da curva da doença (AACPD)

Com base nos estudos de incidência e severidade, calculou-se a área abaixo da curva da doença (AACPD). Houve diferença significativa ($p \leq 0,01$) para os dois parâmetros avaliados (Figura 5). Para a cv. Kottanadan, a AACPD para incidência (AACPDI) evidenciou menor incidência de doença em todos os tratamentos, inclusive no controle negativo (Figura 5A). O mesmo pode ser observado para a AACPD para severidade (AACPDS), mostrando que a severidade foi menor nesses tratamentos para a cv. Kottanadan (Figura 5B). Para a cv. Bragantina, todos os tratamentos mostraram alta porcentagem de AACPDI e AACPDS, exceto para o tratamento Fos-C, para o qual baixa incidência com maior severidade da doença foi observada (Figura 5 A,B).

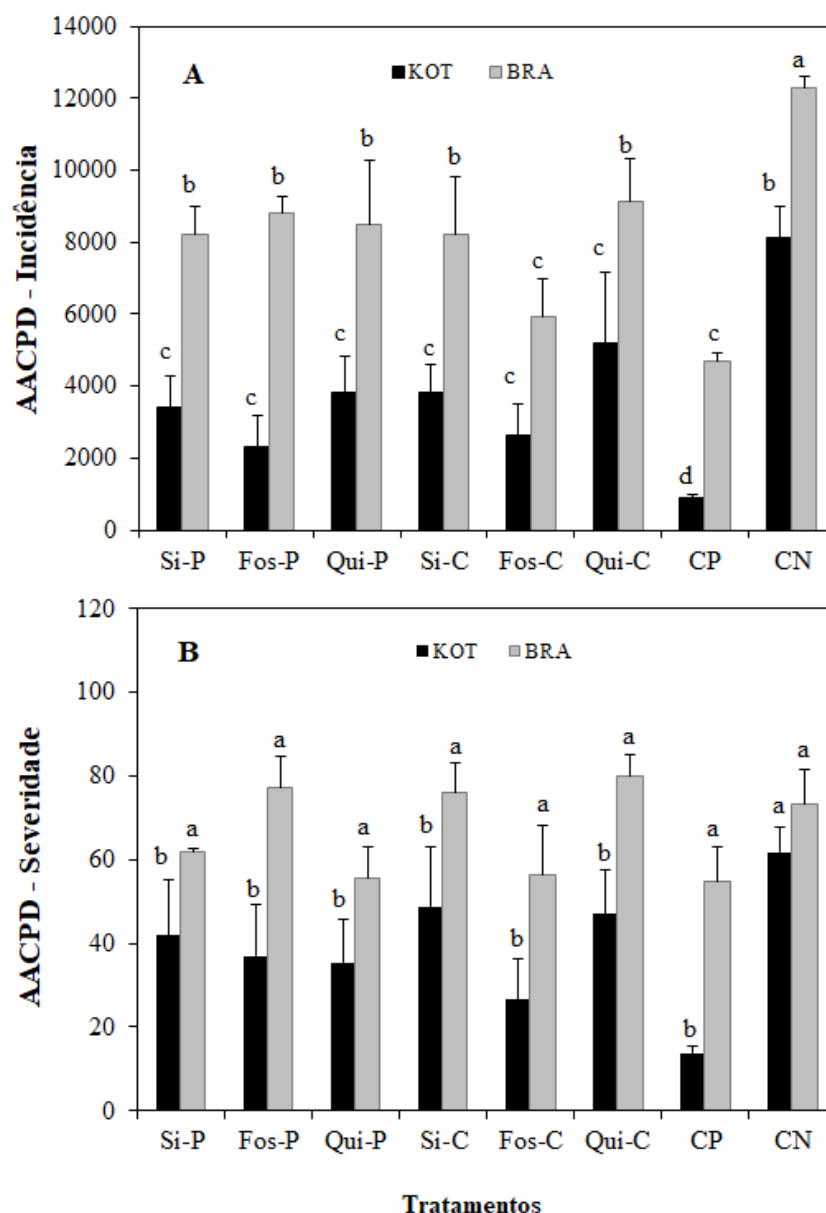


Figura 5: Área abaixo da curva de progresso da doença para incidência (AACPD - Incidência) - (A) e severidade (AACPD - Severidade) - (B), avaliadas aos 180 DAI, em duas cvs. de pimenta-do-reino (KOT – Kottanadan; BRA – Bragantina), considerando a média dos tratamentos controle (CP – controle positivo; CN – controle negativo) e daqueles com aplicação preventiva (P) e curativa (C) de Silício (Si), Fosfite (Fos) e Quitosana (Qui). Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

3.4. Taxa de progresso da doença (R) e período de incubação (PI)

Os valores da taxa de progresso da doença (R) e período de incubação (PI) também apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,01$), pelo teste de Scott-Knott (Figura 6A). Para a cv. Kottanadan, a taxa de progresso da doença foi menor para todos os tratamentos, exceto para o CN. Contrariamente, a cv. Bragantina apresentou maiores taxas de progresso comparada à Kottanadan, e todos os tratamentos (exceto CP) foram iguais ao CN. O

período de incubação foi maior para todos os tratamentos da cv. Kottanadan, variando entre 90 e 100 dias. O fungo inoculado em plantas tratadas previamente com Fos apresentou PI de 120 dias. Embora o controle positivo (CP) não tenha sido inoculado, sintomas de doença foram observados e, portanto, o PI do fungo nessas plantas foi de 130 dias (Figura 6B). Para a cv. Bragantina, de modo geral, o PI de *F. solani* foi de 60 dias, exceto para o controle negativo (CN), que apresentou sintomas de doença aos 45 DAI (Figura 6B).

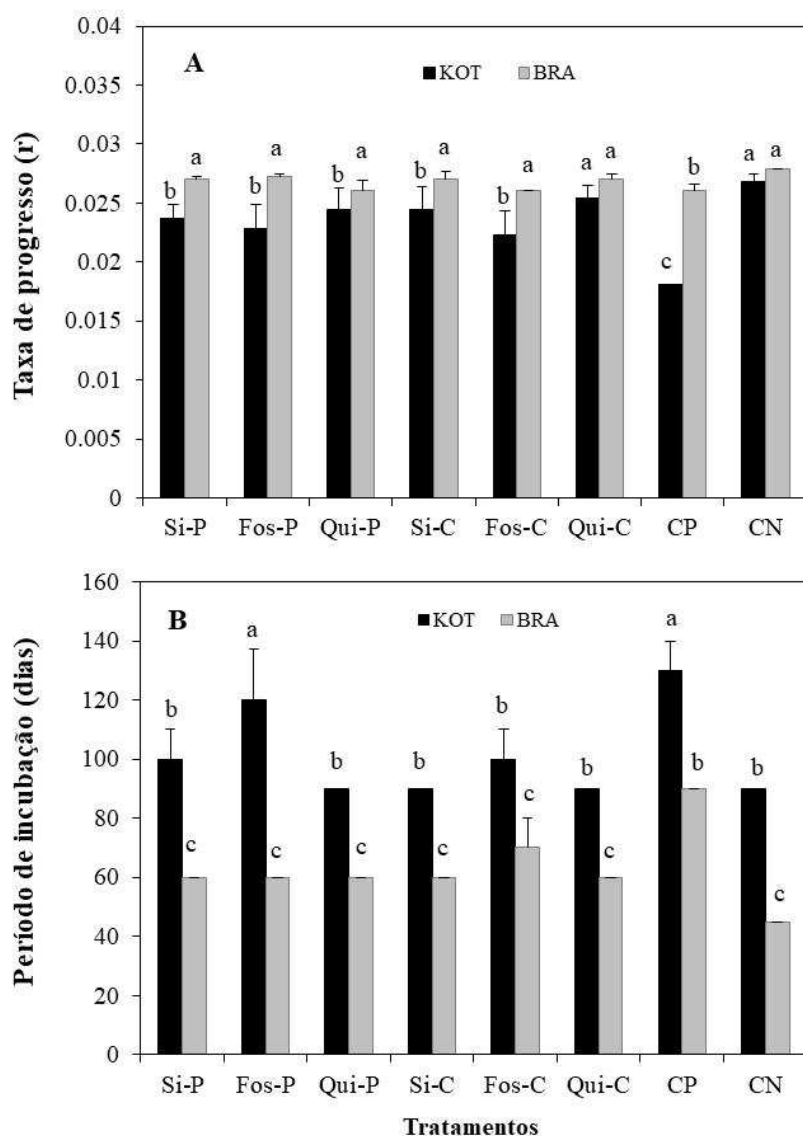


Figura 6: Taxa de progresso da doença (A) e período de incubação (B) de *F. solani* f. sp. *piperis* inoculado em plantas de pimenta-do-reino tratadas com Si (Silício), Fos (Fosfito) e Qui (Quitossana), 30 e 15 dias antes da inoculação (P – preventivo) e 15 e 30 dias após a inoculação (C – curativo). Colunas seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

3.5. Índice de infecção da doença (Índice de McKinney)

O índice de infecção da doença (IDO) também diferiu estatisticamente ($p \leq 0,01$) entre os tratamentos avaliados (Tabela 3). Para a cv. Kottanadan, menores valores de IDO foram observados em todos os tratamentos, exceto para Qui-C, a qual apresentou 36,91% de infecção. Diferentemente, a cv. Bragantina apresentou maior IDO para todos os tratamentos, exceto para Si-C (10,41%) e Qui-C (13,75%). Em relação à classe de reação à doença, as plantas da cv. Kottanadan tratadas com Fos e Qui, preventivamente e Si e Fos, curativamente e o CP, mostraram-se resistentes à infecção fúngica. Os tratamentos Si-P e CN foram classificados como tolerantes. A cv Bragantina não apresentou classe de reação R (resistente). As plantas tratadas com Si-C e Qui-C foram classificadas como tolerantes; as plantas tratadas com Si-P, Fos-P, Qui-P, Fos-C e CP receberam classificação S (sensível) e o CN foi AS (altamente sensível) à doença (ANEXOS 8, 9, 10, 11, 12).

Tabela 3: Índice de infecção da fusariose (*F. solani* f.sp. *piperis*) em duas cultivares de *Piper nigrum* (KOT - Kottanadan; BRA - Bragantina) e reação à doença.

	KOT		BRA	
	Índice de infecção (IDO)*	Classe de Reação (CR)	Índice de infecção (IDO)*	Classe de Reação (CR)
Si-P	6.93 c	T	50.22 b	S
Fos-P	0.20 d	R	30.43 b	S
Qui-P	0.21 d	R	40.23 b	S
Si-C	0.26 d	R	10.41 c	T
Fos-C	0.22 d	R	36.94 b	S
Qui-C	36.91 b	S	13.75 c	T
CP	0.15 d	R	33.57 b	S
CN	6.97 c	T	70.13 a	AS

*Índice de infecção de McKinney (1923): IDO (%)

CR - Classe de Reação; R - Resistente; T - Tolerante; S - Suscetível; AS - altamente suscetível.

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 1% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

A curva de progresso da doença, usualmente expressa pela plotagem da proporção de doença *versus* o tempo, é a melhor representação de uma epidemia. Através dela, interações entre patógeno, hospedeiro e ambiente podem ser caracterizadas (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996).

No patossistema *Piper nigrum* x *Fusarium solani*, o hospedeiro é perene e de origem tropical. O patógeno é um fungo que produz estruturas de resistência, o que gera uma epidemia de média ou longa duração, dependendo de alguns fatores como temperatura, umidade e a resistência do hospedeiro. A temperatura máxima média durante a condução experimento foi de 29,4°C e a mínima de 24,7°C. A umidade relativa média oscilou entre 82,4% e 77,4%. Ambas as variáveis mantiveram-se dentro do intervalo favorável à doença.

Na Figura 2 são apresentadas as curvas de progresso da fusariose em plantas pimenta-do-reino cultivadas, ao longo do tempo e tratadas com diferentes produtos. Para os três tipos de produtos testados, em duas épocas de aplicação, observa-se pontos de maior crescimento da doença, seguidos de períodos com menor intensidade de crescimento. Esses períodos de crescimento elevado da doença coincidem com a produção de cachos (dados não mostrados). De acordo com O'Connell (2012), embora a infecção por *F. solani* possa ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento, é na fase de plena produção que as plantas são frequentemente infectadas e desenvolvem sintomas de doença com maior intensidade.

Outro fator que favorece a atuação do patógeno é a temperatura e a umidade elevadas, agravando ainda mais a doença (DUARTE e ALBUQUERQUE, 1999; BERGAMIN FILHO et al., 2011). No caso de *F. solani*, temperaturas entre 25-35°C favorecem o seu desenvolvimento e a evolução da doença no campo (BEDENDO, 2005). Apesar dos dados de temperatura mencionados coincidirem com os registrados no período de realização deste experimento, observa-se claramente que houve diferença na evolução do patógeno em relação às cultivares de pimenta-do-reino e aos produtos avaliados, independente da temperatura, que mostra o efeito da resistência e dos próprios tratamentos na evolução temporal da doença.

Independente da situação, vários parâmetros importantes da curva de progresso da doença podem ser caracterizados, como: época de início da epidemia, quantidade de inóculo inicial, taxa de progresso da doença (R), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), índice de infecção entre outros (Bergamin Filho et al., 1995; Bergamin Filho e Amorim, 1996), os quais atingiram maiores valores e maiores taxas de crescimento na cv. Bragantina, indicando maior susceptibilidade desta cultivar ao isolado testado. A quantificação de doenças também é necessária tanto para o estudo de medidas de controle, como para a determinação da eficiência de um fungicida ou para a caracterização da resistência do hospedeiro (MICHEREFF, 2001).

4.1. Incidência e Severidade da doença e AACPDs

Menor incidência da doença foi observada para a cv. Kottanadan em todos os tratamentos avaliados, exceto no CN. Diante desses resultados, observou-se que os três produtos testados influenciaram a incidência da doença para a cv. Kottanadan, tanto na aplicação preventiva quanto na curativa, considerando que o CN apresentou maior porcentagem de incidência. Entretanto, houve maior incidência da doença nas plantas da cv. Bragantina tratadas com Si, Fos e Qui, antes e após a inoculação, não diferindo do CN (Figura 3).

Em relação à severidade da doença (Figura 4, Tabela 2), os resultados foram semelhantes aos encontrados para a incidência da doença em relação às cultivares. A severidade foi menor nas plantas da cv. Kottanadan. Apesar do tratamento Si-P apresentar notas de maior severidade da doença (6, 7 e 9), a porcentagem de plantas sem sintomas visíveis de doença neste tratamento (nota 1) foi maior. Os outros tratamentos (Fos e Qui preventivos e Si, Fos e Qui curativos) foram classificados até a nota 5 de severidade, o que corresponde à 25% de severidade da doença (ABAWI e PASTOR-CORRALES, 1990). Contrariamente, para a cv. Bragantina, todos os tratamentos atingiram notas maiores de severidade da doença (6 a 9), acima de 40%. Apesar disso, mesmo apresentando maior severidade, houve diferença entre os produtos (Tabela 2)

Os valores da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) também foram significativamente diferentes entre os tratamentos. Menor AACPD foi observado para a cv Kottanadan em todos os tratamentos. Embora sejam estatisticamente iguais, o Fos-P, Fos-C e Si-P destacaram-se por apresentarem menores valores de AACPD para a cv Kottanadan. Para a cv Bragantina observaram-se maiores valores de AACPD em todos

os tratamentos. Apesar de serem estatisticamente iguais, maiores valores foram observados para Fos-P e Qui-C, além do CN (Figura 5A). A AACPDS (Figura 5B) apresentou comportamento semelhante, revelando que a cv. Kottanadan apresentou menor severidade da doença, principalmente no tratamento Fos-C.

Muitos autores relatam a eficiência do Silício, do Fosfito e da Quitosana em controlar sintomas de doenças causadas por fungos patogênicos (CHÉRIF et al, 1994; EPSTEIN, 1994; BÉLANGER, et al., 2003; BAUSTISTA-BAÑOS et al. 2003; FAUTEUX et al., 2005).

Em relação à eficiência dos produtos na supressividade da doença, observou-se que para a cv. Kottanadan, o Si reduziu a AACPDI e AACPDS em 57,8% e 32,2%, respectivamente, quando aplicado preventivamente. Valores aproximados foram apresentados no tratamento curativo com Si (redução de 52,9% para intensidade e 21,1% para severidade) (Figura 5 A,B). Nossos resultados corroboram com os de Diogo e Wydra (2007) que avaliaram a influência do Si no patossistema tomateiro (*Solanum lycopersicon* L.) x *Ralstonia solanacearum*, agente causal da murcha-bacteriana, e verificaram reduções de 33,8% e 81,2% para a área abaixo da curva de progresso da severidade da doença nos genótipos King Kong 2 e Hawaii 7998, respectivamente. De acordo com os autores, análises imuno- histoquímicas indicaram que o Si pode reduzir a colonização pela bactéria nos vasos do xilema devido à indução de mecanismos de resistência basal, como mudanças na estrutura de polissacarídeos pécticos da parede celular. Pozza et al. (2004) , incorporando 1 g de silicato de Ca em 1 kg de substrato, verificaram redução de 63,2% de folhas de cafeeiro afetadas por cercosporiose e de 43% no total de lesões por plantas, além do aumento significativo nos teores de Si foliar em comparação ao controle. Schurt et al (2012) relataram que o Si contribuiu de forma eficiente para o aumento da resistência física das bainhas de plantas de arroz tratadas com Si quando infectadas com *Rhizoctonia solani*.

Entretanto, resultados semelhantes não foram descritos no presente trabalho para a cv. Bragantina. O comportamento dessa cultivar quando tratada com Si-P e Si-C mostrou que os dois modos de aplicação agiram similarmente na redução da AACPDI da doença (redução de 33,3%). Apesar disso, a AACPDS revelou que Si-P reduziu apenas 15% da severidade e o Si-C estimulou a severidade da doença em 3,6% (Figura 5B).

Os mecanismos de supressão dos patógenos pelas plantas nutridas com Si ainda não foram muito bem elucidados. Para tanto, existem duas explicações para essa supressão: a primeira seria que o acúmulo do Si na epiderme impede a penetração do tubo infectivo dos fungos nos tecidos da planta (MENZIES et al., 1991; VIDHYASEKARAN, 1997; LIMA

FILHO et al., 1999), formando uma barreira física. A segunda seria que o Si afeta consideravelmente os mecanismos de defesa em plantas e não atua apenas de forma passiva na resistência (LIANG et al., 2005), estimulando a produção de fitoalexinas, compostos fenólicos, quitinases, peroxidases e acúmulo de lignina (EPSTEIN, 1999 RODRIGUES et al., 2003).

Em experimentos realizados *in vitro*, a presença de Si não afetou a esporulação de *F. solani*, induzindo o crescimento micelial do fungo em todas as concentrações testadas (D'ADDAZIO et al., 2016). Outros autores também obtiveram resultados semelhantes com *Pestalotia longisetula* (CARRÉ-MISSIO et al., 2010) e *Fusarium* spp e *Verticillium* spp. (KAISER et al., 2005).

A expressão da indução de resistência, através da elicitação de fitoalexinas dentre outras vias, vem sendo desenvolvida pela indústria agroquímica, através de produtos alternativos como o caso dos fertilizantes foliares a base de fosfitos.

Os resultados apresentados neste trabalho revelam que o fosfito aplicado às plantas de pimenta-do-reino da cv. Kottanadam resultou numa maior porcentagem na redução da AACPDI da doença, tanto na forma preventiva (71,4%) como na forma curativa (67,4%) quando comparado aos outros produtos testados. A AACPDS foi de 40,1% e 57% para Fos-P e Fos-C, respectivamente. A ação dos fosfitos sobre os fungos pode se dar de forma direta (FENN e COFFEY, 1985; FENN e COFFEY, 1989) ou por meio da ativação de mecanismos de defesa da planta (GUEST e GRANT, 1991). De acordo com (GUEST e BOMPEIX, 1990), o tratamento com fosfitos induz a planta a apresentar resposta imediata ao ataque de patógenos, o que reforça os resultados observados para a cv. Kottanadan.

Os resultados deste trabalho corroboram com os de outros autores. Na cultura da soja, houve reduções significativas na incidência e severidade de sintomas da ferrugem asiática devido ao emprego de fosfito como fertilizante foliar (GASPARIN et al., 2012). De acordo com Smillie et al. (1989), a aplicação de fosfito promoveu proteção de plantas de fumo contra a invasão do patógeno *Phytophthora nicotianae*, resultando em lesões menores quando comparadas as plantas não tratadas com fosfito. Plântulas de citros (*Citrus sinensis*) tratadas com diferentes formulações de fosfito, quando inoculadas com *Phytophthora citrophthora* e *Phytophthora palmivora* apresentaram redução no número de plantas afetadas (TUSET et al., 2003; ORBOVIC et al., 2008). Jackson et al. (2000), ao avaliarem o comportamento de fosfitos no patossistema *Eucaliptus marginata* e *Phytophthora cinnamomi*, observaram que baixas concentrações de fosfito apresentam

ação indireta, com reflexo no acúmulo de fitoalexinas e fenóis, enquanto o uso de elevadas concentrações, a atuação é direta sobre o patógeno.

Afek and Szejnberg (1989), com base em tratamentos com fosetil-Al e ácido fosforoso, em plantas de *Citrus macrophylla*, laranja azeda e limão rugoso, sugeriram indução de resistência em citros pelo aumento na produção de fitoalexinas. Os autores também sugeriram que o efeito *in vivo* do fosetil-Al pode ocorrer de duas maneiras: tratamentos em níveis baixos do fosetil-Al incrementariam os mecanismos de defesa do hospedeiro, e em altos níveis atuariam como um agente fungistático. De acordo com Feen e Coffey (1989), o efeito do fosfito de potássio seria tão potente quanto o do fosetil-Al, pois possui modo de ação similar.

Resultados contrários foram observados para a cv. Bragantina. A aplicação preventiva de fosfito reduziu em 28,3% a AACPDI da doença, mas aumentou em 5,4% sua severidade. Entretanto, no tratamento curativo para fosfito, a redução da intensidade e da severidade foi de 51,6% e 23,1%, respectivamente.

Apesar de vários trabalhos relatarem a eficácia de fosfitos em reduzir doenças em plantas, principalmente doenças causadas por oomycetos (FOSTER et al., 1998), não há relatos para doenças vasculares. Uma hipótese para a baixa eficácia do fosfito em controlar a incidência e severidade da fusariose na cv. Bragantina, quando aplicado preventivamente, pode estar relacionada a duas formas de ação desse composto. De acordo com Nojosa et al. (2005), a ação indireta do fosfito envolve a ativação de mecanismos de defesa da planta como produção de fenóis ou a lignificação da parede celular da planta, impedindo a penetração ou desenvolvimento de fungos nos tecidos vegetais (PASCHOLATI e LEITE, 1995; AGRIOS, 2005). A ação direta ocorre especificamente sobre o patógeno, danificando a membrana plasmática e a parede celular das hifas (KING et al., 2010). Considerando os resultados obtidos para a cv. Bragantina, infere-se que a aplicação preventiva do fosfito não exerceu ativação nos mecanismos de proteção da planta, sendo evidenciados pela baixa redução na incidência e pelo aumento da severidade da doença. Pode-se considerar, então, que a aplicação do fosfito após a inoculação mostrou efeito sobre o patógeno.

Em testes *in vitro*, Araújo et al. (2008) verificaram a inibição do crescimento das culturas e a velocidade de crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de mancha foliar em maçã Gala, em relação à testemunha, quando utilizadas diferentes formulações de fosfito. Resultados semelhantes foram descritos por D'Addazio

et al. (2016), os quais relataram 100% de inibição do crescimento micelial de quatro isolados de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* na presença de fosfito.

As propriedades antimicrobianas da quitosana têm potencializado sua utilização. Piero e Garda (2008), relataram que a quitosana reduziu a severidade de *Colletotrichum lindemuthianum* em torno de 70%, quando utilizou-se o produto 4 dias antes da inoculação, como também induziu resistência ao fitopatógeno em feijoeiro-comum. Lin et al. (2005) e Bautista- Banões et al. (2006) relataram que quitosana foi eficiente em controlar algumas doenças induzindo resistência na planta ou causando alteração morfológica no patógeno. Entretanto, outros autores apresentaram resultados contraditórios. Pinto et al (2010), utilizando a quitosana para o controle da murcha de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* em crisântemo, relataram que os resultados obtidos com a quitosana foram muito variáveis nas repetições do ensaio, não sendo possível o estabelecimento de uma resposta padrão sobre a doença.

Os resultados apresentados neste trabalho revelam que a quitosana aplicada preventivamente à cv. Kottanadan apresentou maior redução da AACPDI da doença (53%) em relação à aplicação curativa (36%). A severidade da doença também foi reduzida com maior porcentagem para o tratamento preventivo (42,6%) quando comparada ao tratamento curativo (23,8%). A supressividade da fusariose para a cv. Bragantina apresentou comportamento semelhante aos demais produtos. A quitosana preventiva reduziu em 30,9% e 24,3% a intensidade e a severidade da doença, respectivamente. Entretanto, quando aplicada curativamente, ou seja, após a inoculação do patógeno, houve 25,6% na redução da intensidade, mas um aumento na severidade da doença de 9,6%. Uma provável explicação para a baixa supressividade da fusariose em plantas de pimenta-do-reino tratadas com quitosana pode estar relacionada à presença de enzimas envolvidas no processo de patogenicidade do fungo. Algumas dessas enzimas, como as cutinases, as quitosanases (que degradam quitosana) e as celulases entre outras, estão envolvidas na degradação de várias fitoalexinas produzidas pela planta como forma de defesa ao ataque do patógeno (LESLIE e SUMMERELL, 2006).

De acordo com Samac e Leong (1989), Epstein et al (1994) e Jones e Epstein (1990), os mecanismos de patogenicidade de *F. solani*, os quais envolvem a enzima cutinase, o modo de fixação de esporos e a penetração na superfície do hospedeiro, são caracteres importantes que ajudam a determinar se uma estirpe é um patógeno efetivo e o grau de infecção que é capaz de causar. Aliado a esse fato, evidências indicam maior susceptibilidade da cv. Bragantina ao ataque do patógeno.

Experimentos *in vitro* com quitosana mostraram que o produto não inibiu o crescimento micelial de *F. solani* f. sp. *piperis* (D'ADDAZIO et al.; 2016) e de *Neonectria lirioidendri*, causador da doença do caule em videiras (NASCIMENTO et al., 2007).

4.2. Taxa de progresso da doença (R) e período de incubação (PI)

Temperaturas em torno de 25-30°C favorecem o crescimento de *Fusarium* (LESLIE e SUMMERELL, 2006), como também o desenvolvimento de sintomas da doença na raiz e parte aérea de plantas infectadas (SCHERM e YANG, 1996). Entretanto, os sintomas característicos da doença aparecem durante todo o ano. Considerando que os dados de temperatura e umidade relativa do ar no período de realização do experimento foram constantes e favoráveis ao crescimento fúngico, a taxa de progresso da doença foi menor para todos os tratamentos da cv. Kottanadan, exceto para o tratamento Qui-C e CN. O mesmo não ocorreu para a cultivar Bragantina onde a taxa de progresso foi maior (Figura 6A). Nesse sentido, observou-se que os tratamentos Si-P, Fos-P, Qui-P, Si-C e Fos-C para a cv. Kottanadan retardaram o progresso do fungo. O tratamento Qui-C apresentou o mesmo comportamento do CN, indicando que a quitosana não é eficiente para retardar a taxa de progresso da doença. Em relação à cv. Bragantina, todos os tratamentos avaliados não influenciaram a taxa de progresso da doença.

De acordo com Spósito et al. (2004) a resistência de variedades pode ser comparada por meio da taxa de progresso da doença, desde que as plantas sejam submetidas a condições similares de clima e sob a mesma população patogênica. Os autores observaram que as três variedades de *Citrus* avaliadas apresentaram a mesma taxa de progresso da doença (R), concluindo-se, então, que as variedades possuem o mesmo nível de suscetibilidade à mancha preta dos citros. Tais resultados diferem dos encontrados neste trabalho, uma vez que a cv. Kottanadan apresentou menores taxas de progresso da doença, ou seja, menor susceptibilidade à fusariose quando comparada à cv. Bragantina.

Os dados do PI estão de acordo com os dados da taxa de progresso da doença (Figura 6 A,B). A cv. Kottanadan apresentou maior período de incubação do fungo em todos os tratamentos, com destaque para Fos-P (120 DAI). O período de incubação para os demais tratamentos da cv. Kottanadan variou entre 90 e 100 DAI, incluindo o CN, indicando que os tratamentos preventivo e curativo com Si e Qui não influenciaram essa variável. Para a cv. Bragantina, o período de incubação foi menor em todos os tratamentos (entre 60 e 70 DAI). O CN apresentou os primeiros sintomas de doença aos 45 DAI, onde

a temperatura média foi de 24°C, a umidade relativa do ar foi entre 80 e 85% e a precipitação foi de 0,16 mm. Embora os controles positivos (CP) de ambas as cultivares não tenham sido inoculados, houve aparecimento de sintomas da fusariose, sendo o período de incubação de 130 dias para a cv. Kottanadan e 90 dias para a cv. Bragantina (Figura 6B).

Parlevliet (1979) considera que diferenças no período de incubação refletem diferenças na taxa de crescimento do patógeno no hospedeiro e, conseqüentemente, na taxa de progresso da epidemia, sendo um importante componente de resistência.

Se considerarmos somente as cultivares, observamos que a cv. Kottanadan apresentou períodos de incubação mais longos que os da Bragantina, indicando maior resistência quando avaliada por esse parâmetro. Nossos resultados são embasados na correlação negativa entre PI e AACPDS ($r = -0,8747$; $p = 0,0013$).

Alguns autores relatam a eficiência do Si, Fos e Qui no aumento do período de incubação da doença. Resende et al. (2009), obtiveram aumento no período de incubação e redução da infecção da antracnose nas folhas de uma linhagem suscetível de sorgo com a aplicação de silicato de cálcio no solo. Shetty et al. (2012), observaram atraso no aparecimento dos sintomas e redução na severidade do míldio pulverulento em roseira suprida com Si. Em relação aos fosfitos, Silva et al. (2013), relataram que os fosfitos também podem reduzir a esporulação dos microrganismos, possibilitando com isso a redução do potencial de inóculo dos patógenos. Em relação à quitosana, a sensibilidade dos patógenos ao polissacarídeo é variada. Alguns autores obtiveram resultados satisfatórios (GURGEL et al. 2005; CAMILLI et al., 2007; EL HADRAMI et al., 2010) enquanto outros sugerem que os resultados obtidos não são conclusivos (XU et al., 2007; PINTO et al., 2010).

4.3. Índice de infecção de McKinney (IDO) e classe de reação à doença

De acordo com o índice de infecção de McKinney (1923), calculado com base nas notas da avaliação, e com o resultado do teste de Scott-Knott, foram obtidas quatro classes de reação à doença entre os tratamentos avaliados: resistentes, tolerantes, sensíveis e altamente sensíveis (Tabela 3).

A resistência de plantas às doenças ocorre por mecanismos que impedem ou limitam a atividade do patógeno no tecido da planta hospedeira. Por outro lado a tolerância não restringe a infecção, colonização e reprodução do patógeno, mas permite à planta manter

sua produção mesmo sob a colonização de seus tecidos pelo patógeno. Tanto a resistência como a tolerância são controladas por mecanismos complexos da planta e do hospedeiro e podem ser compreendidos sob o ponto de vista fisiológico, genético e epidemiológico (SCHAFER, 1971, AGRIOS, 2005).

De acordo com Camargo e Bergamin Filho (1995) e Agrios (2005), uma das características de resistência de um cultivar é a redução da taxa de progresso da doença seja pelo menor tamanho das lesões, maior período latente ou pela menor capacidade esporulativa ao patógeno. Porém, características genéticas como presença ou ausência de genes de resistência no hospedeiro e genes de virulência e avirulência no patógeno são importantes no auxílio da caracterização da reação à doença.

Na Tabela 3 e na Figura 6A são apresentados os resultados do índice de infecção (IDO) e da taxa de progresso da doença para as duas cultivares estudadas. Nesse sentido, pode-se observar que a cv. Kottanadan apresenta maior resistência ao patógeno comparativamente à cv. Bragantina, ambas submetidas ao mesmo tipo de tratamento. No entanto, nota-se que o CN da cv. Kottanadan foi classificado como tolerante, inferindo-se que não apenas os produtos atuaram na resistência e tolerância da planta, mas também mecanismos de defesa da própria planta. Neste estudo, os resultados são embasados na correlação positiva entre IDO e AACPDS ($r = 0,5266$; $p = 0,4614$).

Mesmo em uma espécie vegetal considerada resistente, tolerante ou suscetível a uma determinada espécie de patógeno, há uma variação considerável tanto na susceptibilidade da planta em relação ao patógeno quanto na virulência do patógeno em relação à planta (AGRIOS, 2005). Os resultados publicados por Fetch e Steffenson (1999) demonstram exatamente essa relação. Os autores verificaram que dentro de uma escala de classificação de doenças para folhas de cevada inoculadas com o fungo *Cochlobolus sativus*, as plantas apresentaram comportamentos diferentes. As mudas 1, 2 e 3 indicaram baixa compatibilidade entre os hospedeiros e o patógeno, enquanto que as mudas 4 e 5 mostram compatibilidade intermediária e as mudas 6, 7, 8 e 9 mostram alta compatibilidade (susceptibilidade). Com base nos resultados da escala de notas e no tipo e tamanho das lesões, os autores classificaram as plantas em resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis. Tais resultados corroboram com os encontrados para a cv. Bragantina, nos tratamentos Si, Fos e Qui preventivos, Fos-C e CP e CN (Tabela 2 e Tabela 3).

Outros autores relatam a reação de espécies e cultivares de maracujá às principais doenças causadas por *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Phytophthora* sp

(MENEZES et al., 1994; PIO-RIBEIRO e MARIANO, 1997; RONCATTO et al., 2004 e FISHER et al., 2005).

Blat et al. (2005), testou 156 acessos de *Capsicum* sp. quanto a resistência ao *Oidiopsis taurica*, sendo 53 considerados resistentes. Em *C. annuum*, dos 99 acessos testados, apenas 5 foram resistentes. Nas demais espécies o inverso ocorreu. Para *C. baccatum*, 31 entre os 37 acessos foram resistentes e, em *C. chinense* 17 dos 20 acessos foram resistentes, apresentando sintomas caracterizados por pequenas manchas necróticas sem esporulação visível. Esse sintoma e reação são resultantes da hipersensibilidade do hospedeiro ao patógeno, o qual constitui num possível e efetivo mecanismo de defesa (STADNIK e RIVERA, 2001).

De acordo com Reifschneider et al. (2000), a alta ocorrência de suscetibilidade em alguns genótipos pode ser devido ao intenso processo de domesticação e seleção, com possível erosão genética e aumento da vulnerabilidade a doenças. Tal fato pode ser uma explicação para a alta susceptibilidade da cv. Bragantina à *F. solani*, também conhecida quando cultivada em campo.

A dinâmica de crescimento do patógeno na cv. Kottanadan foi diferente da dinâmica de crescimento na cv. Bragantina. *F. solani* f. sp. *piperis* é considerado monocíclico, mas provoca uma epidemia poliética, ou seja, apesar de produzir apenas um ciclo de infecção por ano e o progresso da doença em cada ano ser considerado linear, a incidência de plantas infectadas aumenta a uma taxa crescente, de ano para ano.

Agrios (2005) relata que quando um mesmo agente patogênico é inoculado em duas variedades ou cultivares de uma mesma planta hospedeira, uma cultivar é suscetível enquanto a outra é resistente ao mesmo patógeno. Tal fato indica que uma cultivar possui uma característica genética que lhe permite se defender contra o patógeno (e ser resistente), enquanto a outra cultivar não. Entretanto, condições ambientais e de cultivo favoráveis, aliadas à nutrição adequada, resultam em uma infecção (susceptibilidade) ou não-infecção (resistência) em cada interação patógeno x hospedeiro, pré-determinada pelo material genético do patógeno e do hospedeiro.

5. CONCLUSÕES

A cv. Kottanadan apresentou maior nível de resistência à doença, considerando o maior período de incubação e as menores taxas de progresso, índices de infecção, incidência e severidade da doença.

Todas as plantas suplementadas com Silício, Fosfito e Quitosana, de ambas as cultivares, apresentaram melhor comportamento quando comparadas aos respectivos controles negativos. Entretanto, o efeito do Fosfito seguido pelo Silício, agindo direta ou indiretamente sobre a planta, foi maior quando comparado ao da Quitosana.

A época de aplicação dos produtos, preventiva ou curativa, foi semelhante para o controle da doença para ambas as cultivares.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S.; PASTOR-CORRALES, M.A. Root rots of beans in Latin America and Africa: diagnosis, research methodologies, and management strategies. **CIAT**, Cali, p. 114, 1990.
- ACCIOLY, A.M.A.; CONCEIÇÃO, E.G.J.; ANGELA, P.; ALCOFORADO, U.G.; RODRIGUEZ, M.A.D. Distribuição de Silício em bananeiras inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Anais do Fertibio** 2012. Maceió-Alagoas.
- AFEK, U.; SZTEJNBERG, A. Effects of fosetyl-Al and phosphorous acid on scoparone, a phytoalexin associated with resistance of citrus to *Phytophthora citrophthora*. **Phytopathology**, 79, n. 7, p. 736-739, 1989.
- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. Burlington: Elsevier Academic, p. 922, 2005.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. 2a edição. Viçosa: Ed. UFV, p. 516, 2016.
- ARAÚJO, L.; STADNIK, M.J.; BORSATO, L.C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da Gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 148-152, 2008.
- BAUSTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINAB, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and plants extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, Guildford, v. 22, n. 9, p. 1087-1092, 2003.
- BEDENDO, I.P. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 331-342, 2005.
- BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Mineral nutrition in the management of plant diseases. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, n. 4, p. 402- 412, 2003.
- BENCHIMOL, R. L.; SUTTON, J. C.; DIAS-FILHO, M. B. Potencialidade da casca de caranguejo na redução da incidência de fusariose e na promoção do crescimento de mudas de pimenteira-do-reino. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 180-184, 2006.
- BENCHIMOL, R.L.; CHU, E.Y.; MUTO, R.Y.; DIAS-FILHO, M.B. Controle da fusariose em pimentas-do-reino com bactérias endofíticas: sobrevivência e respostas morfofisiológicas. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1343-1348, 2000.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Manejo de fitopatossistemas: conceitos básicos. In: BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 289, 1996.

- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3ª edição. São Paulo: Ceres, p. 919, 1995.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4ª edição. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, p. 907, 2011.
- BLAT, S.F.; COSTA, C.P.; VENCOVSKY, R.; SALA, F.C. Reação de acessos de pimentão e pimentas ao oídio (*Oidiopsis taurica*). **Horticultura Brasileira**. Brasília, v. 23, n. 1, p. 72-75, 2005.
- BRUEHL, G.W. **Soilborne Plant Pathogens**. New York: MacMillan, p. 368, 1987.
- CAIXETA, A.O.; VIEIRA, B.S.; CANEDO, E.J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Cerrado Agrociências**, v. 3, p. 35-43, 2012.
- CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle Genético. In: BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H. & AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**. São Paulo - SP: Agronômica Ceres, p. 729-760, 1995.
- CAMILLI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 215-221, 2007.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990.
- CARRÉ-MISSIO V.; RODRIGUES F.Á.; SCHURT D.A.; REZENDE D.C.; RIBEIRO N.B.; ZAMBOLIM L. Aplicação foliar de silicato de potássio, acibenzolar-S-metil e fungicidas na redução da mancha de *Pestalotia* em morango. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 182-185, 2010.
- CHÉRIF M.; ASSELIN A.; BÉLANGER R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v. 84, p. 236-242, 1994.
- CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.
- D'ADDAZIO, V.; DOS SANTOS, R.A.A.; LEITAO, A.S.B.; DA SILVA, M.B.; FERNANDES, A.A.; FALQUETO, A.R. Evaluation of in vitro inhibition of mycelial growth of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* by different products in Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 47, p. 1992-1998, 2016.
- DIOGO, R.V.C.; WYDRA, K. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 70, p. 120-129, 2007.
- DUARTE M.L.R.; ALBUQUERQUE F.C. **Sistema de Produção da Pimenteira-do-reino**, Embrapa Amazônia Oriental, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/paginas/importancia.htm>

- 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: Plantas Industriais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p. 159-208, 1999.
- DUARTE, M.L.R.; ALBUQUERQUE, F.C.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Doenças da Pimenteira-do-Reino (*Piper nigrum*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. et al. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**. 4ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, cap. 58, p. 507-516, 2005.
- DUARTE, M.L.R.; BOARI, A.J.; BENCHIMOL, R.L. Doenças da Pimenta-do-Reino. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, cap. 61, p. 583-593, 2016.
- EDEL, V.; STEINBERG, C.; GAUTHERON, N.; ALABOUVETTE, C. Populations of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. **Phytopathology**, v. 87, p. 693-697, 1997.
- EL HADRAMI, A. et al. Chitosan in plant protection. **Marine Drugs**, Basel, v. 8, n. 4, p. 968-987, 2010.
- EMBRAPA - EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Manual Segurança e Qualidade para a Cultura da Pimenta-do-Reino**. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 65 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA. 2004.
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 641-664, 1999.
- EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, US, v. 91, n. 1, p. 11-17, 1994.
- EPSTEIN, L.; KWON, Y.H.; ALMOND, D.E.; SCHACHED, L.M.; JONES, M. J. Genetic and biochemical characterization of *Nectria haematococca* strains with adhesive and adhesion-reduced macroconidia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 524-530, 1994.
- FAUTEUX, F.; RÉMUS-BOREL, W.; MENZIES, J.G.; BELANGER, R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 249, p. 1-6, 2005.
- FENN M.E.; COFFEY M.D. Further evidence for direct mode of action of Fosethyl-Al and Phosphorous acid. **Phytopathology**, v. 75, p. 1064-1068, 1985.
- FENN M.E.; COFFEY, M.D. Quantification of phosphonate and ethyl phosphonate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. **Phytopathology**, v. 79, p. 76-82, 1989.
- FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em

- cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 564-570, 2002.
- FERREIRA, H.A. Silício no controle da mancha-aquosa em meloeiro (*Cucumis melo* L.). **Dissertação de Mestrado em Fitossanidade**, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, 2009. 82p.
- FERREIRA, R.; RODRIGUES, A.; CATARINO, A.; MORAES, F. Utilização dos Resíduos Orgânicos de Nim e Citronela no Controle de *Fusarium oxysporum* f .sp. *passiflorae* em Maracujazeiro Amarelo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, p. 893-896, 2009.
- FETCH, T.G.; STEFFENSON, B.J. Rating scales for assessing infection responses of barley infected with *Cochliobolus sativus*. **Plant Disease**, v. 83, p. 213–217, 1999.
- FOSTER, H.; ADASCAVEG, J.E.; KIM, D.H.; STHANGELLINE, M.E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to Phytophthora root and crown rot in hydroponic culture. *Plant Disease*, Quebec, v. 82, n. 10, p. 1165-1171, 1998.
- GASPARIN, T.F.; VIECELLI, C.A.; MOREIRA, G.C. Aplicação foliar de molibdênio e fosfito de potássio na incidência da ferrugem asiática. **Revista Cultivando o Saber**, v. 5, n. 1, p. 30-37, 2012.
- GHINI R. Solarização: histórico, resultados recentes e perspectivas. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p. 139-140, 2004.
- GUEST D.; GRANT B. The complex action of phosphonates as antifungal agentes. *Biol. Rev.*, v. 66, n. 2, p. 159-187, 1991.
- GUEST, D.I.; BOMPEIX, G. The complex mode of action of phosphonates. **Australasian Plant Pathology**, v. 19, p. 113-115, 1990.
- GURGEL, L.M.S.; OLIVEIRA S.M.A.; COÊLHO R.S.B. Resistência induzida contra a murcha de fusário do tomateiro com indutores abióticos. **Summa Phytopathologica**, v. 31, p. 158-164, 2005.
- HOMMA, A.K.O. A civilização da pimenta-do-reino na Amazônia. In: HOMMA, A.K.O (Ed.). **Amazônia: meio ambiente e desenvolvimento agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, p. 61-91, 1998.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 1-84, 2013.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 1, p. 1-83, 2015.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 1-83, 2017.

- JACKSON, R.B.; SPERRY, J.S.; DAWSON, T.E. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. **Trend in Plant Science**, v. 5, n. 11, p. 482-488, 2000.
- JONES, M.J.; EPSTEIN, L. Adhesion of macroconidia to the plant surface and virulence of *Nectria haematococca*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3772-3778, 1990.
- KAISER, C.; van der MERWE, R., BEKKER, T.F.; LABUSCHAGNE, N. In-vitro inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi, including *Phytophthora cinnamomi* by soluble silicon. **South African Avocado Growers' Association Yearbook**. p. 70-74, 2005.
- KING, M.; REEVE, W.; VAN DER HOEK, M.B.; WILLIAMS, N.; MCCOMB, J.; O'BRIEN, P.A.; HARDY, G.E.S.J. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. **Molecular Genetics & Genomics**, v. 284, p. 425-435, 2010.
- LEMONS, O.F.; POLTRONIERI, M.C; MENEZES, I.C.; MONDIM, M. Conservação e melhoramento genético da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) em associação com as técnicas de biotecnologia. Belém, Pará: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2011.
- LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The Fusarium laboratory manual**. Malden: Blackwell Publishers, 2006.
- LIANG, Y.C.; SUN, W.C.; SI, J.; RÖMHELD, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant. Pathology**, v. 54, p. 678- 685, 2005.
- LIMA FILHO, O.F.; LIMA, M.T.G.; TSAI, S.M. O silício na agricultura. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n. 87, p. 1-7, 1999.
- LIN, W.; HU, X.; ZHANG, W.; ROGERS, W.J.; CAI, W. Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 937-944, 2005.
- MATTOS, L.P.V. Potencial de hidrolisado de peixe para o controle de fitopatógenos. **Dissertação de Mestrado em Agronomia**, Universidade Federal de Lavras - UFLA, 2007. 59p.
- McKINNEY, R.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, p. 195-218, 1923.
- MENEZES, J.M.T.; OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C.; BANZATO, D.A. Avaliação da taxa de pegamento de enxertos de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à “morte prematura de plantas”. **Científica**, v. 22, n. 1, p. 95-104, 1994.
- MENZIES, J.G. et al. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. **Phytopathology**, v. 81, n. 1, p. 84-88, 1991.

- MICHEREFF, S.J. **Epidemiologia de doenças de plantas**. UFRPE, 2001. Disponível em: [www. google. com. br](http://www.google.com.br).
- NASCIMENTO, T.; REGO, C.; OLIVEIRA, H. Potential use of chitosan in the control of grapevine trunk diseases. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 46, n. 2, p. 218-224, 2007.
- NICOLE, L.R. Levantamento de solos da Fazenda Experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus, ES. **Trabalho de Conclusão de Curso - TCC**, 2014. 37p.
- NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.P.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.) **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**. FEALQ, Piracicaba, p. 139-153, 2005.
- O'CONNELL, N. **Dry root rot of citrus orchards**. 2012. Disponível em: <http://ucanr.org/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=7511>.
- ORBOVIC, V.; SYVERSTSEN, J.P.; BRIGHT, D.; VAN CLIEF, D.L.; GRAHAM, J.H. Citrus seedling growth and susceptibility to root rot as affected by phosphite and phosphate. **Journal Plant Nutrition**, v. 31, p. 774-787, 2008.
- PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Plant Pathology**, v. 17, p. 203-222, 1979.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, cap. 22, p. 417-454, 1995.
- PIERO, R.M.D; GARDA, M.V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanase em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1121-1128, 2008.
- PINTO, Z.V.; BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Efeito de casca de camarão, hidrolisado de peixe e quitosana no controle da murcha de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* em crisântemo. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 16-23, 2010.
- PIO-RIBEIRO, G.E.; MARIANO, R. de L. R. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 528-533, 1997.
- POZZA, A.A.A.; ALVES, E.; POZZA, E.A.; CARVALHO, J.G.; MONTANARI, M.; GUIMARÃES, P.T.G.; SANTOS, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 185-188, 2004.
- PREZOTTI, L.C.; GOMES, J.A.; DADALTO, G.G.; OLIVEIRA, J.D. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo**: 5ª edição. Vitória: SEEA/Incaper/Cedagro, 305. 2007.

- REIFSCHNEIDER, F.J.B. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. **Embrapa Hortaliças**, Brasília, p. 113, 2000.
- RESENDE, R.R.; RODRIGUES, F.A.; SOARES, J.M.; CASELA, C.R. Influence of silicon on some components of resistance to anthracnose in susceptible and resistant sorghum lines. **European Journal of Plant Pathology**, v. 124, p. 533-541, 2009.
- RODRIGUES, F.A. et al. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. **Phytopathology**, v. 93, p. 535-546, 2003.
- RONCATTO, G.; OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C.; NOGUEIRA FILHO, G.C.; CENTURION, M.A.P.C.; FERREIRA, F.R. Comportamento de maracujazeiros (*Passiflora* spp.) quanto à morte prematura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 552-554, 2004.
- SAMAC, D.A.; LEONG S.A. Disease development in *Cucurbita maxima* squash infected with *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*. **Canadian Journal of Botany**, v. 67, p. 3486-3489, 1989.
- SANTOS, H.A. *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum*. 94f. **Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias**, Universidade de Brasília - UnB, 2008.
- SEAG – Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca, Governo do Estado do Espírito Santo. **Pimenta-do-reino**, 2013. Disponível em: <https://seag.es.gov.br/producao>.
- SEAG – Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca, Governo do Estado do Espírito Santo. **Pimenta-do-reino**, 2014. Disponível em: <https://seag.es.gov.br/exportacoes>.
- SCHAFER, J.F. Tolerance to plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 8, p. 235-252, 1971.
- SCHERM, H.; YANG X.B. Development of sudden death syndrome of soybean in relation to soil temperature and soil water matric potential. **Phytopathology**, v. 86, n. 6, p. 642-649, 1996.
- SCHURT, D.A.; RODRIGUES, F.A.; REIS, R.D.; MOREIRA, W.R.; SOUZA, N.F.A.; SILVA, W.A. Resistência física de bainhas de plantas de arroz supridas com silício e infectadas por *Rhizoctonia solani*. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 4, p. 281-285, 2012.
- SHETTY, R.; JENSE, B.; SHETTY, N.P.; HANSEN, M.; HANSEN, C.W.; STARKEY, K.R.; JORGENSEN, H.J.L. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. **Plant Pathology**, v. 61, p. 120-131, 2012.
- SILVA, A.C. et al. Coffee-leaf extract and phosphites on the curative control of powdery mildew in eucalyptus mini-stumps. **Forest Pathology**, Oregon, v. 43, p. 118-126, 2013.

- SILVA, A.N. Efeito de produtos químicos e de *Trichoderma* spp. no controle de *Fusarium solani* do maracujazeiro. **Dissertação de Mestrado em Agronomia**, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, 2011. 55p.
- SILVA, S.O.; NETO, A.P.D.; SILVA, M.B. Pimenta-do-reino: importância da defesa fitossanitária para a sustentabilidade da atividade na região norte do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 1, n. 1, p. 88-92, 2011.
- SMILLIE, R.; GRANT, B.R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in **Plants Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, p. 921-926, 1989.
- SPÓSITO, M.B.; AMORIM, L.; BELASQUE JÚNIOR, J.; BASSANEZI, R.B.; AQUINO, R. Elaboração e validação de escala diagramática para a avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 81-85, 2004.
- STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. Oídios. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, p. 484, 2001.
- TREMACOLDI, C.R. Principais Doenças Fúngicas da Pimenteira-do-Reino no Estado do Pará e Recomendações de Controle. **Embrapa Amazônia Oriental**, Belém-PA, p. 25, 2010.
- TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S. Doenças da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. et al. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 579-593, 1997.
- TUSET, J.J.; LAPEÑA, I.; GARCÍA-MINA, J.M. Efecto fungitóxico del ácido fosforoso en naranjo dulce a la infección con zoosporas de *Phytophthora citrophthora*. **Boletín Sanidad Vegetal de Plagas**, v. 29, p. 413-420, 2003.
- VAZ, A.B. Caracterização biológica e filogenética do agente etiológico da Fusariose da Pimenta-do-Reino no Brasil. Tese de Doutorado em Agronomia/Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2013. 62p.
- VENTURA, J.A.; COSTA, H. **Manejo da fusariose da pimenta-do-reino no estado do Espírito Santo**. INCAPER, Vitória, 2004. 16 p.
- VENTURA, J.A.; MILANEZ, D. **Fusariose da pimenta-do-reino e seu controle**. EMCAPA, Cariacica-ES, 1983. (EMCAPA, Circular Técnica, 2).
- VIDHYASEKARAN, P. **Fungal pathogenesis in plants and crops: molecular biology and host defense mechanisms**. CRC Press. 1997. 553 p.
- VISCONTI, A. Fontes de matéria orgânica para inibição de fitopatógenos habitantes do solo. **Dissertação de Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas**, Universidade Estadual Paulista-UNESP, 2008. 61p.
- WHEELER, T.; RUSH, C.M. Soilborne diseases. In: Maloy, O.C.; Murray, T.D. (Eds.) **Encyclopedia of Plant Pathology**. New York: JohnWiley & Sons, p. 935-947, 2001.

- XING, L.J.; WESTPHAL, A. Interaction of *Fusarium solani* f. sp *glycines* and *Heterodera glycines* in sudden death syndrome of soybean. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 7, p. 763-770, 2006.
- XU, J.; ZHAO, X.; HAN, X.; DU, Y. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 87, p. 220–228, 2007.

CAPÍTULO 4 – Biometria da pimenta-do-reino inoculada com *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e suplementada com Silício, Fosfito e Quitosana

Verônica D'Addazio^{1*} • Adriano Alves Fernandes² • Marcelo Barreto da Silva² • Antelmo Ralph Falqueto²

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, CEP 29932-900, São Mateus, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: veronicaddazio@yahoo.com

Periódico a ser submetido ou submetido: a ser definido

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas biométricas de plantas de pimenta-do-reino, cultivares Kottanadan e Bragantina, inoculadas com *F. solani* f. sp. *piperis* e suplementadas com produtos alternativos (Silício, Fosfito e Quitosana), em dois modos de aplicação. O experimento foi realizado em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 3 fatores e 4 controles e as avaliações foram feitas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software Genes 3.1. Plantas de pimenta-do-reino com 4 meses de idade foram transplantadas para vasos com capacidade para 5L, onde foram aclimatadas até completarem 6 meses de idade, quando iniciou-se aplicação dos produtos. Os produtos Silício, Fosfito e Quitosana foram adicionados aos vasos 30 e 15 dias antes da inoculação (aplicação preventiva) e 15 e 30 dias após a inoculação (aplicação curativa). Aos 180 dias após a inoculação, foram avaliados comprimento total, comprimento da parte aérea, comprimento da raiz, volume de raiz, massa de matéria fresca total, massa de matéria fresca da parte aérea, massa de matéria fresca da raiz, massa de matéria seca total, massa de matéria seca da parte aérea, massa de matéria seca da raiz, diâmetro do caule e número de folhas. Menores valores de biometria e produção de biomassa foram observados para a cv. Bragantina em todos os tratamentos. Esses resultados foram embasados pelas correlações negativas entre os parâmetros e a severidade da doença. Independente da época de aplicação dos produtos, a cv. Kottanadan foi menos afetada pela doença em todos os parâmetros avaliados. Fosfito e Silício são mais eficientes para a supressividade da fusariose e indução de resistência para a cv. Kottanadan, pois mantiveram a produção de biomassa mesmo em condições de estresse.

Palavras-chave: Biomassa • controle alternativo • crescimento • fusariose • nutrição mineral • *Piper nigrum* •

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the biometric responses of black pepper plants, cv. Kottanadan and Bragantina, inoculated with *F. solani* f. sp. *piperis* and supplemented with alternative product (Silicon, Phosphite and Chitosan). The experiment was performed under greenhouse conditions following a randomized block design (RBD), with 3 factors and 4 controls. The evaluations were made using the grouping test of Scott-Knott. All data were submitted to analysis of variance (ANOVA) using Genes 3.1 software. Four-months-old black pepper plants were transplanted in 5-L pots (one plant per pot), and acclimated until six-months-old, when the products were applied. The products Silicon, Phosphite and Chitosan were added in each pot 30 and 15 days before the inoculation (preventive application) and 15 and 30 days after the inoculation (curative application). 180 days after inoculation (DAI), total length, aerial part length, root length, root volume, total fresh matter mass, shoot fresh matter mass, root fresh matter mass, dry matter mass, total dry matter mass, root dry matter mass, stem diameter and number of leaves were evaluated. Lower values of biometry and biomass production were observed for cv. Bragantina in all treatments. These results were based on the negative correlations between the parameters and the disease severity. Regardless of the way the products are applied, the cv. Kottanadan was less affected by the disease in all parameters evaluated. Phosphite and Silicon are more efficient for the suppressivity of fusariosis and induction of resistance for the Kottanadan cultivar, since they maintained the biomass production even under stress conditions.

Keywords: Biomass • alternative control • growth • fusariosis • mineral nutrition • *Piper nigrum* •

1. INTRODUÇÃO

A fusariose, também conhecida por podridão-do-pé, podridão-das-raízes e mal-de-mariquita é a principal doença da cultura de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), de ocorrência restrita ao Brasil (KIMATI et al., 1997; TRINDADE e POLTRONIERI, 1997; TREMACOLDI, 2010). O agente causal da fusariose é o *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. emend. Snyder & Hans. f. sp. *piperis*, Albuquerque (Teleomorfo *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuq.) (DUARTE et al., 2005).

A doença é responsável por dizimar lavouras inteiras. Detectada primeiramente no Estado do Pará em 1960, a fusariose está, atualmente, disseminada em todos os Estados produtores de pimenta-do-reino. Desde a constatação do patógeno no Pará, mais de 10 milhões de pimenteiros morrem por ano (DUARTE et al., 2005).

Entretanto, mesmo doenças tão devastadoras como a fusariose não são totalmente estudadas, e as técnicas de prevenção e combate a esta e outras doenças não são totalmente eficientes (SILVA et al. 2011). Como consequência, o ciclo produtivo da cultura que dura em média 12 anos foi alterado, tornando-se mais curto, com uma média de cinco a seis anos de sobrevivência em área de ocorrência da doença (LEMOS et al., 2011). A severidade das doenças causadas por *Fusarium* spp. está condicionada a fatores favoráveis tais como: temperatura, umidade, plantio em solos arenosos, presença de nematóides, ocorrência de pH baixo e adubação com baixo teor de potássio, além da falta de resistência do hospedeiro (SANTOS, 2008).

As doenças de plantas são um dos principais fatores limitantes na produtividade e produção agrícola. A maioria dos produtores utiliza grandes quantidades de defensivos agrícolas para o controle de doenças de plantas, desconhecendo que a nutrição mineral tem um papel importante no controle dessas doenças (ZAMBOLIM e VENTURA, 2012). Plantas que sofrem estresse de nutrientes são mais susceptíveis, enquanto aquelas com nutrição adequada tornam-se tolerantes ou resistentes a doenças. A resistência de plantas às doenças está relacionada principalmente à genética. Entretanto, a capacidade de expressar a sua resistência genética a um determinado patógeno é fortemente afetada pela nutrição mineral (ZANÃO JÚNIOR, 2012).

Os requisitos nutricionais da pimenta-do-reino devem ser considerados em conjunto com o estado de fertilidade do solo e a incidência de doenças que afetam a cultura. A exigência exata dos nutrientes para o crescimento adequado e o desenvolvimento de

pimenta-do-reino não está elucidada. Estudos sobre nutrientes em plantas de pimenta enraizadas, com cerca de três meses e quatro a cinco folhas, mostraram que o nutriente mais requerido foi o N, seguido por K e Ca. Os micronutrientes mais utilizados foram Fe, Mn, Zn e Cu. Embora existam diferenças significativas entre as cultivares quanto à utilização de nutrientes, estudos realizados mostraram que o manejo adequado de nutrientes na cultura de pimenta-do-reino é essencial para plantas saudáveis (SADANANDAN, 2000).

Apesar da nutrição de plantas determinar, em grande parte, a sua resistência ou susceptibilidade a doenças, sua estrutura morfológica ou histológica, a função de tecidos para rápida ou lenta patogênese, a agressividade e sobrevivência do patógeno, o método químico ainda é o mais utilizado para o controle das inúmeras enfermidades de plantas. Contudo, uma prática alternativa é manejar a nutrição mineral para aumentar a resistência à doença (MARSCHNER, 1995).

Até o momento, não há tratamento químico eficaz contra o *F. solani* f. sp. *piperis*, nem tampouco cultivares de pimenta-do-reino resistentes à fusariose (TREMACOLDI, 2010). Entretanto, métodos ou produtos alternativos têm sido parcialmente testados visando o aproveitamento de suas atividades antibióticas (fungicidas e fungistáticas) no controle de doenças de plantas.

As fontes minerais contendo silício (Si) vêm sendo extensivamente utilizadas com este propósito. Ainda assim, o efeito do Si no controle de doenças de plantas, seu modo de ação e sua atuação na epidemia de diversos patossistemas ainda não estão totalmente esclarecidos. Existem na literatura muitos estudos mostrando que o suprimento de Si, seja via solo, foliar ou solução nutritiva, a várias espécies de mono e dicotiledôneas, tem contribuído de forma significativa para reduzir a intensidade de várias doenças de importância econômica (BÉLANGER et al., 1995; ZAMBOLIM e VENTURA, 1996; FAUTEUX et al., 2005; RODRIGUES e DATNOFF, 2005; DATNOFF et al., 2007).

A importância da aplicação de Si para as plantas está relacionada principalmente ao aumento do crescimento e produção vegetal por meio de várias ações indiretas, deixando as folhas mais eretas com diminuição do auto sombreamento; redução do acamamento; maior rigidez estrutural dos tecidos; proteção contra estresses abióticos; diminuição na incidência de patógenos; e aumento na proteção contra herbívoros, incluindo os insetos fitófagos (EPSTEIN, 1994; MARSCHNER, 1995).

Há poucos estudos sobre os efeitos do silício no crescimento das plantas, com a maior parte das publicações tratando de aspectos nutricionais e do papel benéfico desse

elemento na resistência a estresse biótico, com eventual avaliação da produtividade final do cultivo (LAVIOLA et al., 2007; POZZA et al., 2009). Entretanto, Epstein (1994), relata que dentre os benefícios relacionados à adubação silicatada, podem ser mencionados o aumento da massa seca da parte aérea e das raízes. Savant et al. (1997), demonstraram que o Si aumenta o crescimento e o desenvolvimento da planta com correspondente acréscimo na produtividade, além de controlar várias enfermidades do arroz. Outros efeitos indiretos do uso de silício incluem o aumento no teor de clorofila; atraso na senescência; redução da toxidez de alguns minerais; interações positivas com fertilizantes, entre outras (EPSTEIN, 1994; MARSCHNER, 1995; SAVANT et al., 1997).

Outro produto bastante utilizado no controle de doenças de planta é o fosfito. São compostos derivados do ácido fosforoso que podem se combinar com elementos como potássio, cálcio, magnésio, manganês, alumínio e zinco. Tais compostos caracterizam-se por possuírem considerável ação fungicida, por não serem fitotóxicos quando utilizados em concentrações adequadas (COHEN e COFFEY, 1986) e por estimular o crescimento das plantas (NOJOSA et al., 2005). Embora, muito raramente, há relatos do efeito benéfico do fosfito sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas, como o aumento da intensidade floral, produção, tamanho e qualidade dos frutos (LOVATT e MIKKELSEN, 2006). É possível que os efeitos benéficos do fosfito sobre as plantas sejam, de forma indireta, pela supressão de patógenos que, mesmo em baixos níveis de doenças, sem sintomas visíveis, seriam suficientes para reduzir a produção, o crescimento e o desenvolvimento das plantas (MC DONALD et al., 2001).

Os fosfitos apresentam ação sistêmica acropetal e basipetal e atuam na supressão de doenças foliares e radiculares (GUEST e GRANT, 1991). A sistemicidade dos fosfitos permite que esses possam ser aplicados via pulverização foliar, fertirrigação, imersão de mudas, injeção e pincelamento de órgãos afetados (CASTRO et al., 2008).

A efetividade direta dos fosfitos contra fungos está relacionada principalmente ao íon fosfito que parece ter ação direta sobre o patógeno (PEREIRA et al., 2012). Além disso, os fosfitos também podem reduzir a esporulação dos microrganismos, possibilitando com isso a redução do potencial de inóculo dos patógenos (SILVA et al., 2013). Outra grande vantagem da utilização dos fosfitos refere-se à capacidade de estimular a formação de fitoalexinas, uma substância natural de auto defesa da planta (DERCKX e CREASY, 1989). Produtos a base de fosfitos são comercializados no Brasil como fertilizantes foliares possuindo ação no controle de várias doenças (NASCIMENTO et al., 2008; PASCHOLATI et al., 2014). Segundo Pegg et al. (1985) os fosfitos apresentam eficácia

similar ao Fosetil-Al. Acredita-se que o fosfito seja formado no interior na planta, em função da aplicação de Fosetil-Al e que esse seja o componente ativo desse fosfonato (SAINDRENAN et al., 1990).

Outra medida para o manejo da fusariose é o uso de fontes de matéria orgânica (hidrolisado e emulsão de peixe, carapaça de crustáceos e quitosana) incorporadas ao substrato e/ou solo para a indução de supressividade. Essas fontes de matéria orgânica são relacionadas controlando doenças causadas tanto por patógenos da parte aérea (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; Di PIERO e GARDA, 2008) quanto pelos habitantes de solo (DOMINGUES, 2006; VISCONTI, 2008; MUÑOZ et al., 2009).

A quitosana é a forma desacetilada da quitina e forma um polímero biodegradável. Na agricultura, a quitosana tem ganhado especial atenção em função de suas propriedades fungistática e fungicida, além da habilidade de induzir resistência sistêmica adquirida em plantas, com produção de compostos de defesa, como os polifenóis (MAZARO et al., 2008), indução da produção de quitinases e elicitação da produção de fitoalexinas no tecido do hospedeiro (CAMILI et al., 2007). O poder antimicrobiano da quitosana depende de vários fatores, tais como; o grau de desacetilização, peso molecular, pH do meio e temperatura (DEVLIEGHÈRE et al., 2004). Poucas são as pesquisas sobre o efeito da quitosana no desenvolvimento de plantas. No entanto, de acordo com Otha et al. (2000) e Rabea et al. (2003), a quitosana possui na sua constituição química entre 6,89 a 8,7% de nitrogênio, o que pode promover aumento no crescimento vegetativo e reprodutivo em algumas plantas. Otha et al., (2004), estudando plantas ornamentais, verificaram que a quitosana proporcionou maior produção de matéria seca e fresca da parte aérea e da raiz e uma floração antecipada em comparação com os demais tratamentos.

Nesse contexto, avaliar as respostas biométricas de plantas de pimenta-do-reino, cultivares Kottanadan e Bragantina, inoculadas com *F. solani* f. sp. *piperis* e suplementadas com produtos alternativos (Silício, Fosfito e Quitosana), em dois modos de aplicação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Material vegetal e cultivo*

Mudas de pimenta-do-reino, cv. Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), com 4 meses de idade, foram obtidas do Viveiro Pingo de Ouro (Córrego do Giral, Jaguaré-ES), credenciado pelo Registro Nacional de Sementes e Mudas - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RENASSEM). As mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 5L e tutoradas em estacas de madeira medindo 2 cm² x 1m de comprimento. Todos os vasos foram devidamente colocados sob pallets de madeira para evitar contato direto com o solo ambiente.

O desenvolvimento das plantas ocorreu em viveiro, com sombrite à 50%, situado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES/UFES). Neste período, as plantas foram irrigadas diariamente e nos meses mais quentes, a irrigação foi feita duas vezes ao dia. Três vezes por semana, as plantas foram irrigadas com 100 mL de solução nutritiva 2 com 100% de força iônica (adaptado de FERNANDES et al., 2002). Esse procedimento foi realizado até as plantas completarem 6 meses de idade, quando iniciou-se a aplicação dos produtos de controle da fusariose. Após a aplicação dos produtos, as plantas receberam 50 mL de solução nutritiva, duas vezes por semana, até o fim do experimento, por 6 meses (ANEXO 5)

Aos 5 meses de idade, as plantas foram podadas em corte bisel, entre o quarto e quinto ramo plageotrópico, para estimular a brotação lateral e formação da copa.

2.2. *Tratamento do solo*

O solo utilizado para cultivo das plantas foi retirado da Fazenda experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES) e classificado como Planossolo Háplico, franco argilo arenoso, fase relevo plano (NICOLE, 2014).

A solarização foi baseada em Ghini (2004) e realizada por um período de 3 meses. A calagem foi feita de acordo com a recomendação da análise de solo. Para a adubação do m³ de solo foi utilizado 3,12kg CaNO₃, 2,3kg NH₄H₂PO₄, 750g KCl, 400g MgSO₄, 39g CuSO₄, 92g H₃BO₃, 91g MnSO₄ e 340mg ZnSO₄ (Adaptado de PREZOTTI et al, 2007).

2.3. Produtos alternativos de controle da fusariose

A fonte de fosfito utilizada foi Fosetyl-Al (Bayer[®]) e seguiu a dose recomendada para a cultura do café, correspondendo a 2,0 kg de produto comercial/hectare (1000 plantas). De acordo com a Embrapa (2004), 1 hectare de pimenta-do-reino corresponde a 1600 plantas.

A fonte de silício foi o Silicato de Cálcio (Aldrich Chemistry[®]), e a dose recomendada foi de 1g/kg de solo (ACCIOLY et al. 2012). Silício e fosfito foram diluídos em água destilada para serem adicionados aos vasos em três pontos previamente marcados ao redor do coleto da planta. Os produtos foram aplicados utilizando-se uma seringa com volume de 10 mL.

A dose de Quitosana (Fagron[®]) utilizada foi de 1g/kg de solo (baseada em PINTO et al., 2010 e BENCHIMOL et al. 2006). Por ser insolúvel em água, sua adição aos vasos foi na forma de pó, em três pontos previamente marcados ao redor do coleto da planta.

Os produtos foram adicionados aos vasos em duas aplicações: antes da inoculação do fungo (preventivo) e após a inoculação (curativo). A aplicação dos produtos preventivamente ocorreu 30 e 15 dias antes da inoculação e a aplicação curativa foi realizada 15 e 30 dias após a inoculação.

Os controles positivo (sem inoculação) e negativo (com inoculação) não receberam os produtos.

2.4. Material biológico e cultivo

Foi utilizado o isolado de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* CML 2466, da Coleção Micológica de Lavras, Universidade Federal de Lavras – MG. O fungo foi mantido em placas de Petri contendo o meio BDA (Batata Dextrose Ágar), à 4°C. Para a inoculação, discos de 5 mm da cultura pura foram transferidos para placas de Petri, contendo o mesmo meio. As placas foram incubadas à 25°C em B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), com fotoperíodo de 12h, por 15 dias.

De acordo com Vaz (2013), o nível de patogenicidade do isolado CML 2466 é 9, baseado na escala de notas proposta por Ventura (2010, não publicado) (Tabela 1).

Tabela 1: Escala de notas para avaliação da fusariose em *Piper nigrum*, causada por *F. solani* f. sp. *piperis*.

Nota	Descrição
1	Sem sintomas perceptíveis
2	Sintomas muito leves no ponto de inoculação (lesão <5 mm)
3	Algumas folhas cloróticas, lesões nos entrenós (5-15 mm)
4	Folhas com clorose (lesão 15-20 mm)
5	Plantas com sintoma de murcha e clorose (lesão 20-25 mm)
6	Clorose e murcha das folhas e ramos; pode ocorrer queda dos entrenós (lesão 25-30 mm)
7	Clorose, murcha e necrose limitada em cerca de 50% das folhas e queda dos entrenós (lesão 30-35 mm)
8	Sintomas severos ocorrem à queda dos entrenós (lesão >35 mm)
9	Sintomas de desfolha severa, clorose e murcha em 75% das folhas ou mais. Plantas mortas

Fonte: José Aires Ventura, 2010, não publicado.

2.5. Suspensão de esporos

A suspensão de esporos de *F. solani* foi preparada pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada a cada placa contendo o fungo, sendo estas raspadas com alça de Drigalsky, para uma eficiente extração dos esporos. A Contagem de esporos foi realizada em Câmara de Neubauer e a suspensão foi ajustada para uma concentração de 10^8 esporos por mL⁻¹.

2.6. Inoculação dos vasos

Um volume de 10 ml da suspensão de esporos na concentração citada foi adicionado a cada vaso, próximo ao coleto das plantas. Aos vasos do tratamento controle positivo foi adicionado 10 ml de água destilada esterilizada (ANEXO 6).

Após a finalização do experimento, o patógeno foi reisolado com o intuito de completar o Postulado de Koch (ANEXO 7).

2.7. Parâmetros Biométricos

Para avaliar os efeitos dos produtos sobre o crescimento das plantas de pimenta-do-reino após 180 dias da inoculação com *F. solani* f. sp. *piperis*, todos os vasos de cada

tratamento e variedade foram utilizados. Cada planta foi separada em parte aérea e raiz. O comprimento da parte aérea (CPA) foi obtido com auxílio de uma régua graduada, medindo da base do coleto da planta até o ápice da última folha. O comprimento da raiz (CRZ) foi realizado, medindo-se da base do coleto até a ponta da raiz e o comprimento total (CT) foi a soma de CPA e CRZ. O diâmetro do caule (DC) foi medido com paquímetro digital (Digimess[®]). O volume da raiz (VR) foi calculado por meio do método da proveta, pela diferença entre o volume inicial e o final, após a inserção das raízes (LAURETT et al. 2017). O número de folhas (NF) foi obtido por meio de contagem direta. Posteriormente, cada parte da planta foi lavada, pesada e, acondicionada em sacos de papel devidamente identificados. A secagem do material ocorreu em estufa com circulação forçada de ar, durante 72 horas a 60°C. As respectivas massas (massa de matéria fresca total – MFT; massa de matéria fresca da parte aérea – MFPA; massa de matéria fresca da raiz – MFR; massa de matéria seca total – MST; massa de matéria seca da parte aérea – MSPA e massa de matéria seca da raiz – MSR) foram determinadas em balança digital de precisão (0,0001 g) e expressas em g.planta^{-1} (WILSON et al., 1999) (ANEXO 13).

2.8. Delineamento experimental

O experimento foi realizado em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 3 fatores e 4 controles. O primeiro fator representado pelas cultivares (cv.) Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), o segundo fator representado pelos produtos silício, fosfito e quitosana (Si, Fos e Qui) e o terceiro fator representado pela época de aplicação: preventiva (P) e curativa (C). Apesar dos tratamentos serem compostos por 3 fatores e seus respectivos níveis, a análise em esquema fatorial limitaria a comparação com os controles positivo e negativo para cada cultivar. Assim, na análise de variância, desconsiderou-se os efeitos dos fatores e suas interações e, no desdobramento da mesma, realizou-se teste de agrupamento de Scott-Knott. Foram utilizadas 3 repetições, totalizando 48 parcelas, com 10 plantas por parcela (Figura 1). Para o estudo das relações entre as variáveis, foram realizadas análises de correlação linear de Pearson (r). A significância das correlações foi analisada pelo teste “t” de Student em nível de 5% de probabilidade. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software Genes 3.1 (CRUZ, 2016).

Bloco 1	Fos-P (KOT)	Qui-C (KOT)	Qui-P (BRA)	CN (BRA)	Si-P (BRA)	Qui-C (BRA)	CP (KOT)	Si-C (BRA)
	CP (BRA)	Si-P (KOT)	Fosf-C (KOT)	Fos-P (BRA)	Si-C (KOT)	CN (KOT)	Fos-C (BRA)	Qui-P (KOT)
Bloco 2	Qui-P (KOT)	Si-C (KOT)	Si-P (BRA)	CN (KOT)	Fos-C (BRA)	Fos-P (KOT)	CP (BRA)	Qui-C (BRA)
	CP (KOT)	Fos-P (BRA)	Qui-C (KOT)	Qui-P (BRA)	Si-C (BRA)	CN (BRA)	Fos-C (KOT)	Si-P (KOT)
Bloco 3	Fos-C (BRA)	Si-P (KOT)	CP (KOT)	Qui-P (KOT)	Si-C (BRA)	Fos-P (BRA)	CN (BRA)	Si-C (KOT)
	Si-P (BRA)	CN (KOT)	Qui-C (BRA)	Fos-C (KOT)	Qui-P (BRA)	CP (BRA)	Qui-C (KOT)	Fos-P (KOT)

Figura 1: Disposição dos tratamentos em viveiro, localizado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES).

KOT – Kottanadan; Bra – Bragantina

CP – controle positivo (sem inóculo); CN – controle negativo (com inóculo)

Fos-P = fosfito preventivo; Si-P = silício preventivo; Qui-P = quitosana preventivo

Fos-C = fosfito curativo; Si-C = silício curativo; Qui-C = quitosana curativo

3. RESULTADOS

No geral, houve similaridade entre os produtos suplementados e a época de aplicação, para ambas as cultivares.

Observou-se diferença significativa ($p \leq 0,01$) para os parâmetros biométricos avaliados referentes a MFT, MFPA, MFR e NF (Figura 2). Maiores valores de MFT foram observados para a cv. Kottanadan em todos os tratamentos em comparação à cv. Bragantina. Para a MFT da cv. Kottanadan todos os tratamentos foram semelhantes ao CP, mas diferiram do CN. Para a cv. Bragantina, os tratamentos Qui-P, Si-C e Fos-C foram semelhantes ao CP, mas diferiram do CN. Os tratamentos Si-P, Fos-P e Qui-C foram semelhantes ao CN, mas diferiram do CP (Figura 2A).

A MFPA foi maior para a cv. Kottanadan em todos os tratamentos e nos controles positivo e negativo, comparativamente à cv. Bragantina: 51,4% para Si-P; 53,4% para Fos-P; 36,3% para Qui-P; 29,7% para Si-C; 37,5% para Fos-C; 46,1% para Qui-C; 34,1% para CP e 55,1% para CN (Figura 2B). Considerando a cv. Kottanadan, observa-se que os tratamentos Si-P, Fos-P, Qui-P e Fos-C foram semelhantes ao CP e diferiram do CN. Os tratamentos Si-C e Qui-C foram menores que o CP e semelhantes ao CN. Em relação a cv. Bragantina, observa-se que os tratamentos Qui-P, Si-C e Fos-C foram semelhantes ao CP e maiores que os demais tratamentos e que o CN.

A MFR também foi maior para a cv. Kottanadan em comparação à cv. Bragantina: 32,3% para Si-P; 43,4% para Fos-P; 25,9% para Qui-P; 13,1% para Si-C; 31,7% para Fos-C; 16,7% para Qui-C; 54,1% para CP e 38,1% para CN. Entretanto, para a cv. Kottanadan, todos os tratamentos apresentaram valores de MFR menores que os observados para o CP. Apesar disso, os tratamentos Fos-P, Qui-P, Si-C e Fos-C apresentaram valores maiores quando comparados ao CN. Os tratamentos Si-P e Qui-C foram iguais ao CN. Não houve diferença entre os tratamentos e os controles para a cv. Bragantina (Figura 2C).

Maior NF foi observado para a cv. Kottanadan em comparação à cv. Bragantina. Entretanto, não houve diferença entre os tratamentos e os controles para ambas as cultivares (Figura 2D).

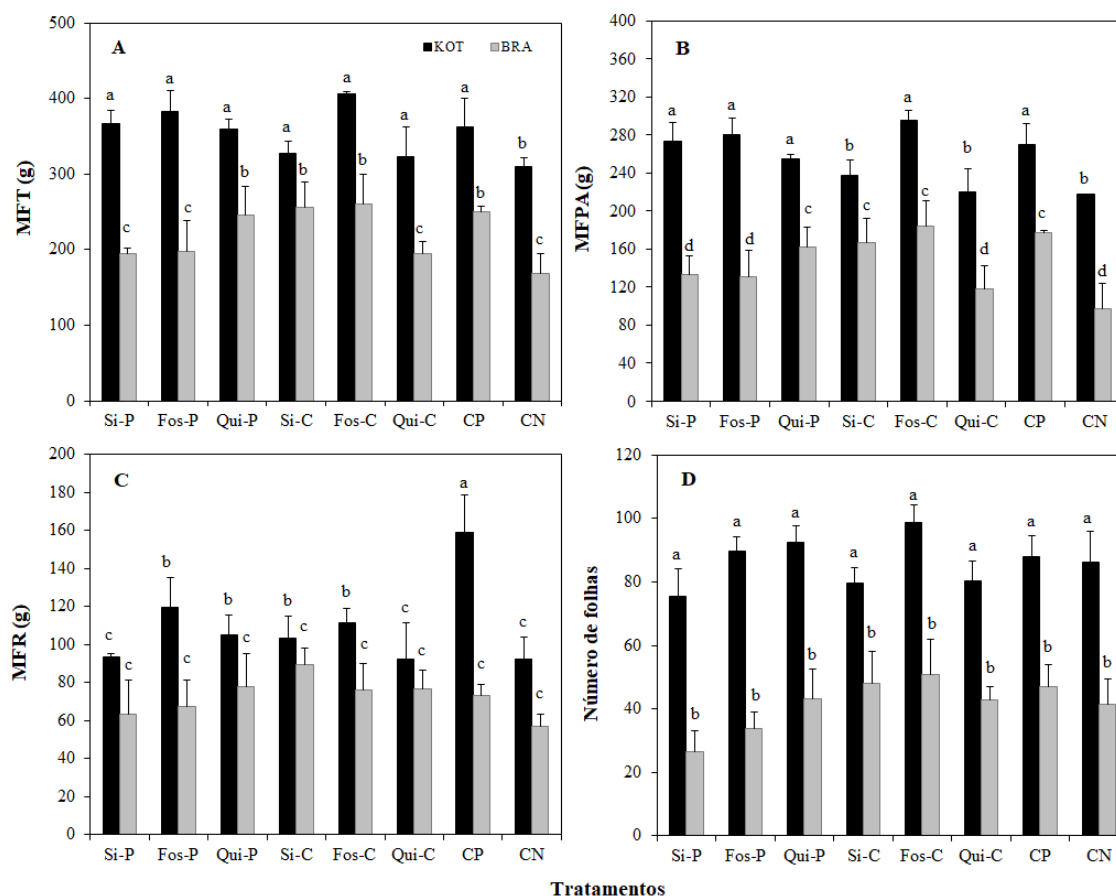


Figura 2: Massa de matéria fresca total (MFT) – A; massa de matéria fresca da parte aérea (MFPA) – B; massa de matéria fresca da raiz (MFR) – C e número de folhas (NF) – D das cultivares Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente (Si-P, Fos-P e Qui-P) e curativamente (Si-C, Fos-C e Qui-C). Todas as plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

Houve diferença significativa para as características CT, CPA, CRZ, VR e DC ($p \leq 0,01$), com maiores valores para a cv. Kottanadan comparativamente à cv. Bragantina (Figura 3).

Em relação ao CT, para a cv. Kottanadan, apesar dos tratamentos e dos controles apresentarem médias iguais estatisticamente, observou-se maior comprimento total para as plantas tratadas com Si-P e Fos-P. As plantas da cv. Bragantina não diferiram em relação aos tratamentos e aos controles (Figura 3A).

Maior CPA foi observado para os tratamentos Si-P, Fos-P e Fos-C, seguidos por Qui-P, Si-C e Qui-C e pelos controles positivo e negativo para a cv. Kottanadan. Para a cv. Bragantina, maior valor de CPA foi observado para o tratamento Fos-C, seguido por Fos-P,

Qui-P, Si-C, Qui-C e o CP. O tratamento Si-P e o CN apresentaram os menores valores para CPA (Figura 3B).

Apesar do CRZ apresentar maiores valores para a cv Kottanadan em comparação à cv. Bragantina, não houve diferença entre os tratamentos e os controles, tanto para a cv. Kottanadan quanto para a cv. Bragantina (Figura 3C).

Em relação ao VR, não houve diferença entre os tratamentos e os controles para a cv. Kottanadan, apesar dos tratamentos Qui-P e Fos-C e o CP apresentarem valores maiores em comparação aos demais tratamentos. Valores menores de VR foram observados para a cv. Bragantina. O VR foi maior para a cv. Kottanadan para a maioria dos tratamentos e para os controles positivo e negativo quando comparado à cv. Bragantina: 26,1% para Si-P; 34,5% para Fos-P; 32,5% para Fos-C; 25,8% para Qui-C; 39,9% para CP e 35,7% para CN (Figura 3D). Estatisticamente, os tratamentos Qui-P e Si-C foram iguais para ambas as cultivares. Entretanto, os valores de VR para a cv. Kottanadan foram maiores em 23,7% e 6,1%, respectivamente, em relação à cv. Bragantina.

Em Kottanadan, o DC diferiu significativamente apenas para o tratamento Qui-P e o CN. Os demais tratamentos foram iguais estatisticamente para ambas as cultivares (Figura 3E).

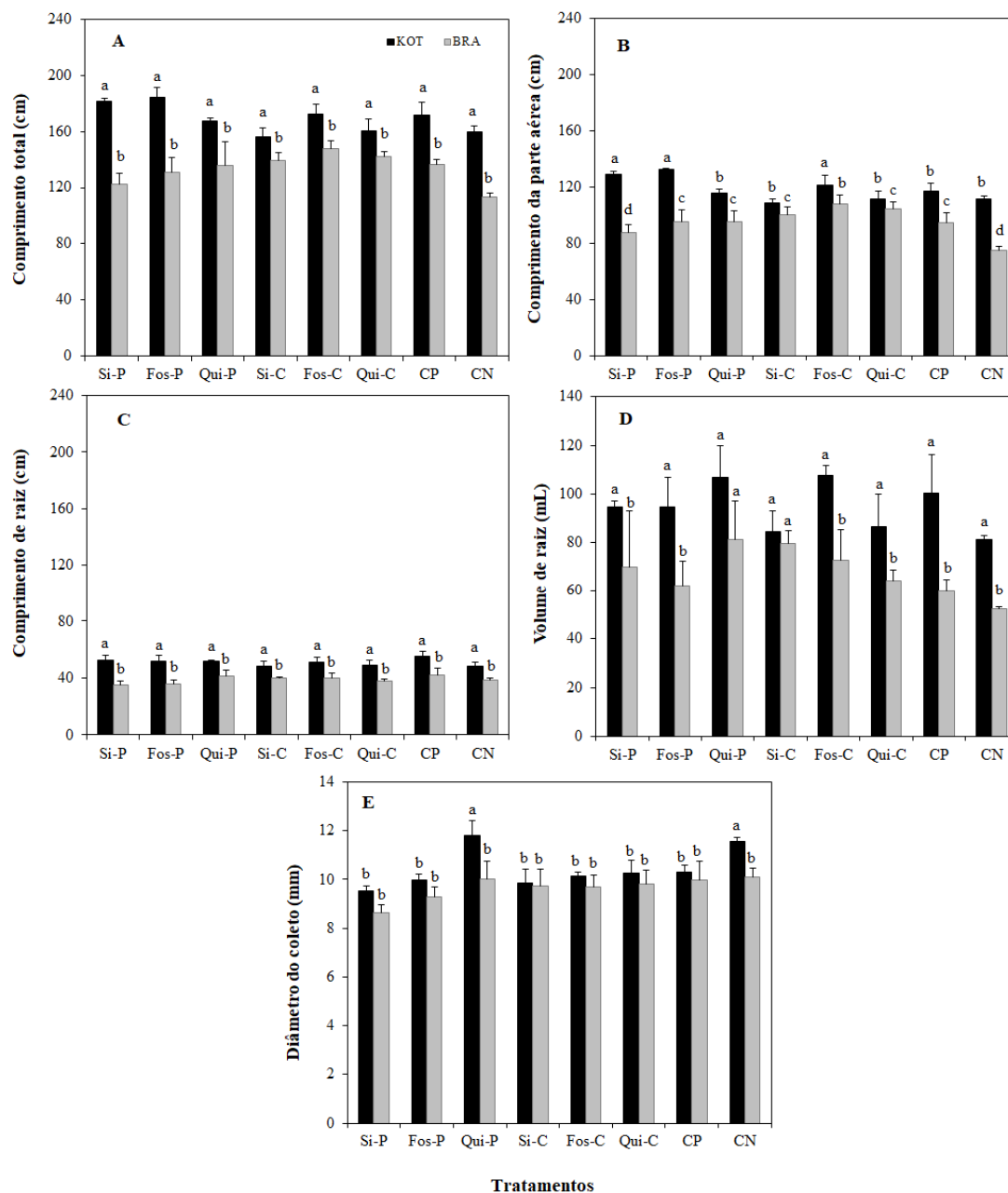


Figura 3: Comprimento total da planta (CT) – A; comprimento da parte aérea (CPA) – B; comprimento de raiz (CRZ) – C; volume de raiz (VR) – D e diâmetro do coleto (DC) – E das cultivares Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente (Si-P, Fos-P e Qui-P) e curativamente (Si-C, Fos-C e Qui-C). Todas as plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

As massas de matéria seca também apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,01$) em ambas as cultivares (Figura 4). Maiores valores de MST foram observados para a cv. Kottanadan para todos os tratamentos, exceto para Si-C que não apresentou diferença estatística em relação à cv. Bragantina (Figura 4A). Para a cv. Bragantina, o menor valor

de MST foi observado para o tratamento Si-P. Os demais tratamentos mostraram-se semelhantes aos controles.

Para a cv. Kottanadan, a MSPA apresentou maiores valores nos tratamentos com Fos-P, Qui-P, Fos-C e Qui-C e nos CP e CN. Menores valores de MSPA foram observados nos tratamentos Si-P e Si-C. Para a cv. Bragantina, todos os tratamentos e os controles apresentaram maiores valores de MSPA, exceto Si-P. Em relação a diferença entre as cultivares, Kottanadan apresentou melhores resultados de MSPA em comparação à Bragantina: 42,6% para Si-P; 42,8% para Fos-P; 43,1% para Qui-P; 36,4% para Fos-C; 27,2% para Qui-C; 28,1% para CP e 29,3% para CN. Para o tratamento com Si-C, apesar de não apresentar diferença estatística entre as cultivares, observou-se que para a cv. Bragantina, valores de MSPA 10,8% maiores foram obtidos comparativamente à cv. Kottanadan (Figura 4B).

Os valores de MSR foram maiores para a cv. Kottanadan em comparação à cv. Bragantina: 65,9% para Si-P; 56,9% para Fos-P; 40,2% para Qui-C; 42,9% para Si-C; 47,5% para Fos-C; 20,1% para Qui-C; 45,7% para CP e 14,5% para CN. Entretanto, o tratamento Qui-C e o CN não foram considerados diferentes estatisticamente (Figura 4C). O comportamento das cultivares em relação aos produtos revelou que para a cv. Kottanadan, os maiores valores de MSR foram observados na presença de Si-P, Fos-P, Qui-P e Si-C. Para a cv. Bragantina, todos os tratamentos apresentaram comportamento semelhante aos CP e CN, exceto Si-P e Fos-C, com menores valores para MSR (Figura 4C).

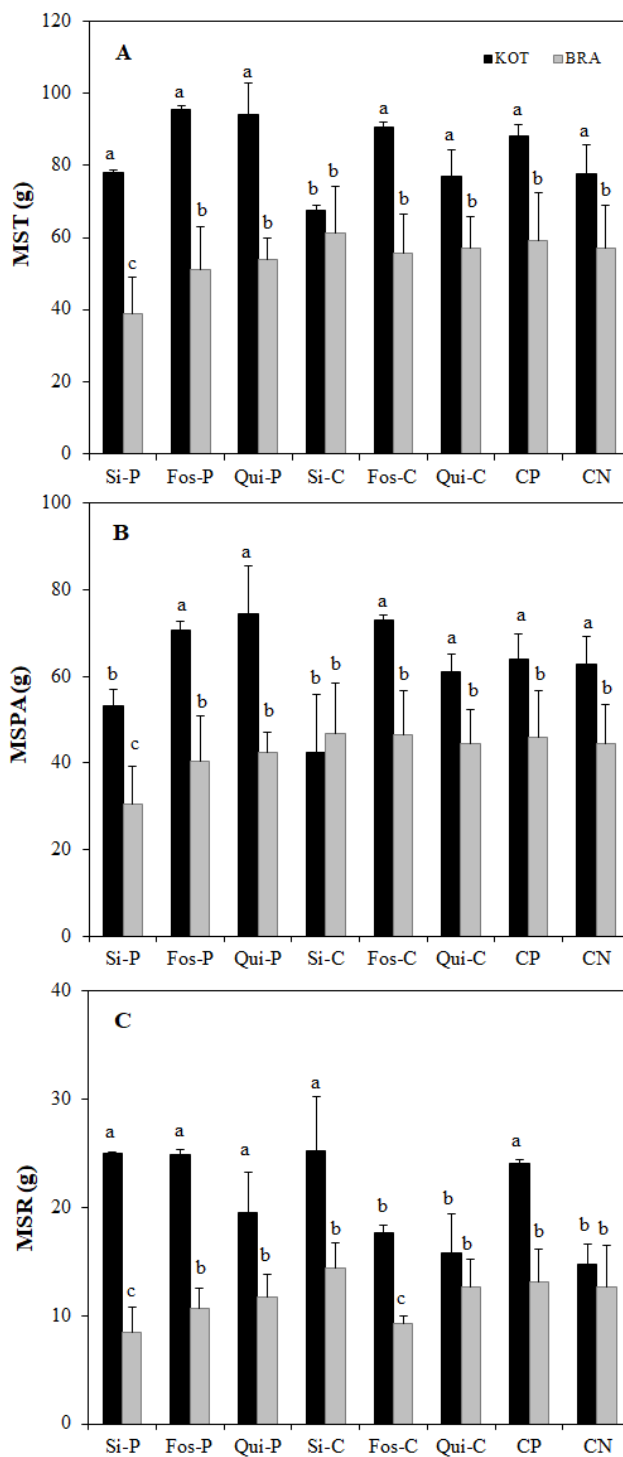


Figura 4: Massa de matéria seca total (MST) – A; massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) – A e massa de matéria seca da raiz (MSR) – B das cultivares Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente (Si-P, Fos-P e Qui-P) e curativamente (Si-C, Fos-C e Qui-C). Todas as plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

4. DISCUSSÃO

Analisando-se os parâmetros biométricos, no geral, melhores resultados foram observados para a cv. Kottanadan quando comparada à cv. Bragantina. Tais dados são embasados pela correlação negativa entre todos os parâmetros analisados e a severidade da doença: CT ($r = -0,7697$; $p = 0,0536$); CPA ($r = -0,6842$; $p = 0,3479$); CRZ ($r = -0,8689$; $p = 0,0018$); VR ($r = -0,838$; $p = 0,0064$); MFT ($r = -0,8633$; $p = 0,0023$); MFPA ($r = -0,88$; $p = 0,001$); MFR ($r = -0,836$; $p = 0,0069$); MST ($r = -0,7373$; $p = 0,1175$); MSPA ($r = -0,7319$; $p = 0,1325$); MSR ($r = -0,6904$; $p = 0,3098$); NF ($r = -0,7873$; $p = 0,0332$).

De acordo com Marschner (1995), Epstein (2001) e Malavolta (2006), o Si é considerado um elemento importante às plantas, pois confere aumento da resistência ao ataque de pragas e doenças, aumento na capacidade fotossintética, aumento do número de folhas, do diâmetro do caule e do tamanho das plantas entre outras características.

Apesar de o Si ter estimulado a esporulação e o crescimento micelial de *F. solani* f. sp. *piperis* em testes *in vitro* (D'ADDAZIO et al., 2016), em condições de viveiro apresentou comportamento favorável ao controle da fusariose em pimenta-do-reino (Capítulo 3 - figura 5 A,B), com maiores valores de MFT, MFPA, NF, CT, CPA, CRZ, VR, MSPA e MSR para a cv. Kottanadan, em comparação à cv. Bragantina (Figura 2 A,B,D; Figura 3 A-D e Figura 4 A-C).

De acordo com Deren et al. (1994), as plantas diferem bastante na sua capacidade de absorver o Si, até mesmo entre genótipos de uma mesma espécie. Em arroz, trigo e cevada, a absorção de Si é um processo ativo (OKUDA e TAKAHASHI, 1962; RAINS et al., 2006). Algumas dicotiledôneas como pepino, melão, morango e soja absorvem o Si passivamente (TAKAHASHI et al., 1990; MA et al., 2001). O Si é transportado das raízes para a parte aérea pelo xilema e após ser depositado, torna-se imóvel (BALASTRA et al., 1989). Baseando-se nesses autores, nos resultados observados para a cv. Bragantina e considerando que a pimenta-do-reino é classificada como uma Eudicotiledônea (DONOGHUE e DOYLE, 1989; LOCONTE e STEVENSON, 1991; EMBRAPA, 2004) e na capacidade de *F. solani* f. sp. *piperis* invadir os vasos xilemáticos, inferimos que a cv. Bragantina não apresentou capacidade de absorção do Si.

Resultados similares foram descritos por Ferreira (2009), avaliando o efeito do Si no controle da mancha-aquosa em meloeiro (*Cucumis melo* L.). De acordo com o autor, a altura da planta aumentou 9,15% após inoculação com a bactéria *Acidovorax avenae*

subsp. *citrulli* e tratadas com Si. Lopes (2006) verificou ganho em altura de copa em tomateiros inoculados com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e tratados com silicato de cálcio, correspondente a 9,8% em relação ao tratamento controle. É importante observar que o cálcio presente no silicato de cálcio (forma de Si utilizada no presente trabalho) tem atuação na divisão e expansão celular (destacando crescimento radicular), na formação e funcionamento de parede celular, na ativação de diversas enzimas e proteínas e como mensageiro secundário em várias respostas das plantas a sinais ambientais e hormonais (MA e YAMAJI, 2008; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Outros autores corroboram com resultados favoráveis ao uso do Si. Diogo e Wydra (2007) observaram que plantas de tomateiro tratadas com Si e inoculadas com a bactéria *Ralstonia solanacearum* apresentaram um aumento na matéria seca da parte aérea em 243% em relação às plantas inoculadas não tratadas. Dannon & Wydra (2004) relataram um efeito de “tolerância” ao patógeno em plantas suscetíveis de tomateiro infectadas com *Ralstonia solanacearum* e cultivadas em hidroponia. Os autores relacionaram o efeito de tolerância ao ganho em matéria seca pelas plantas tratadas com Si. Chérif e Bélanger (1992) verificaram que plantas inoculadas com o *Pythium* spp. e tratadas com Si aumentaram a matéria seca de raízes e parte aérea bem como o número de frutos, especialmente frutos com padrões de qualidade para comercialização, em relação ao tratamento controle inoculado e sem Si. Zanão Júnior et al. (2009) relataram que a maior produção da matéria seca da parte aérea, menor severidade final da mancha-parda (*Bipolaris oryzae*) e menor área abaixo da curva do progresso da mancha-parda na cultura do arroz foram obtidos com a aplicação do Si via solo. De acordo com Agarie et al. (1998) e Zanão Júnior (2007), a maior produção de matéria seca da parte aérea das plantas que receberam Si via solo pode ter ocorrido pela melhoria na arquitetura da planta e no aproveitamento da água promovida pelo Si.

A ação do fosfito sobre a incidência e severidade da fusariose nas cvs. Kottanadan e Bragantina, descrita no Capítulo 3, resultou em menor área abaixo da curva de progresso da doença tanto para a incidência quanto para a severidade, principalmente para a cv. Kottanadan. Em relação aos parâmetros biométricos, observou-se resultados favoráveis ao crescimento e desenvolvimento das plantas tratadas com fosfito inoculadas com o patógeno. Em todos os parâmetros avaliados, exceto para diâmetro do coleto (DC), melhores resultados foram observados para a cv. Kottanadan quando comparada à cv. Bragantina (Figura 2; Figura 3 e Figura 4).

O termo fosfito é o nome genérico empregado para os sais do ácido fosforoso (H_3PO_3) que apresentam elevada solubilidade, rápida absorção pelas plantas, com grande seletividade e translocação via xilema e floema (GUEST e GRANT, 1991; VITTI et al. (2005). Alguns autores consideram que o fosfito tem ação direta sobre o patógeno, com efeito fungistático (SMILLIE et al., 1989; BARCHIETTO et al., 1992; MCGRATH, 2004) enquanto outros acreditam que ela é indireta por meio da ativação dos mecanismos de defesa da planta (GUEST e BOMPEIX, 1990; GRANT et al., 1992; ANDREU e CALDIZ, 2006). Guest e Grant (1991) afirmaram que mesmo após inibição direta do fosfito, metabólitos resultantes desta ação são eliminados e podem induzir defesas. Plantas tratadas com o ácido fosforoso e após inoculação do patógeno, mostraram mudanças relacionadas à defesa, como hipersensibilidade, migração do núcleo e acúmulo de fitoalexinas ao redor das células (GUEST, 1986 e 1991; DANIEL et al., 2005). Ambos os modos de ação das fontes de fosfito podem ter atuado e, portanto, contribuído para os resultados obtidos no presente estudo para ambas as cultivares de pimenta-do-reino avaliadas.

Entre os produtos comercializados como fertilizantes foliares ricos em micronutrientes, os fosfitos são aqueles mais frequentemente relatados na literatura como indutores de respostas de defesa em plantas, incluindo a síntese de fitoalexinas (JACKSON et al., 2000; NOJOSA, 2003; NOJOSA et al., 2005). A indução de resistência em citrus contra *Phytophthora citrophthora* e *Phytophthora nicotianae* ocorreu com os produtos Phytogard®, silicato de potássio e fosfito, com aumento da matéria seca da parte aérea e da raiz em relação ao controle (SARRIA VILLA, 2010).

Embora existam muitas divergências quanto ao efeito nutricional do fosfito, Weels et al. (2000) observaram que o fosfito aplicado via solo aumentou os níveis nutricionais e a absorção de fósforo pelas plantas de alfafa. Entretanto, McDonald et al. (2001) apontam que não existem evidências concretas de que as plantas utilizem o fosfito como fonte direta de fósforo. O efeito do fosfito em reduzir os níveis de doenças, mesmo assintomáticos, pode ser suficiente para aumentar a produtividade e a qualidade das culturas. Rezende (2014), avaliando plântulas de tangerina inoculadas e não inoculadas com *Phytophthora nicotianae* e tratadas com diferentes concentrações de uma fórmula comercial de fosfito, observou que não houve diferença na produção de massa fresca nas plântulas não inoculadas. Entretanto, nas plântulas inoculadas houve um aumento gradual de massa fresca de parte aérea e raiz à medida que se aumentou a concentração de fosfito aplicada. O aumento da massa fresca somente em plantas inoculadas com *P. nicotianae* pode indicar o potencial de controle do fosfito em reduzir os danos causados pelo patógeno, sem prejuízos

para a fisiologia do hospedeiro. Diferentes respostas fisiológicas proporcionadas pelo fosfito podem estar relacionadas ao metabolismo de carboidratos, estímulo da rota do ácido chiquímico e/ou alterações hormonais e químicas nas plantas (LOVATT e MIKKELSEN, 2006).

De acordo com Graham e Timmer (1994), em estados avançados da infecção, a produção de novas raízes é inferior ao ritmo de morte das raízes, ocasionando uma incapacidade da planta de manter água em quantidade suficiente e captação adequada de minerais, resultando em menor produção, perda de folhas e morte progressiva da copa. No geral, os resultados descritos neste estudo para a cv. Bragantina sugerem menor capacidade para realizar a absorção de nutrientes, considerando a total colonização do fungo nas raízes e no xilema (ANEXO 14).

A avaliação da capacidade de absorção de fosfito também mostrou diferenças entre genótipos de soja (WANG et al., 2004). Segundo os autores, tais diferenças foram associadas a uma maior densidade de pêlos radiculares e comprimento de pêlos por unidade radicular (mas menor média de comprimento de pêlos radiculares) no genótipo mais eficiente na absorção de fosfito comparado ao menos eficiente. Não há na literatura uma caracterização do sistema radicular da pimenta-do-reino, nem tampouco das cultivares. Entretanto, durante os experimentos, observou-se que a cv. Kottanadan apresenta maior volume radicular (Figura 3D) (ANEXO 15).

A quitosana, forma desacetilada da quitina, tem sido pesquisada para se determinar sua habilidade no aumento da tolerância de plantas a estresses (LEE et al., 1999) e na ativação de respostas de defesa, protegendo as espécies vegetais contra microrganismos fitopatogênicos (BENHAMOU, 1996). Em nossos resultados para a incidência e severidade da fusariose, observou-se que a quitosana diminuiu a incidência e severidade da doença para ambas as cultivares quando aplicada preventivamente. Entretanto, quando aplicada curativamente, um aumento de 9,6% da severidade da doença foi observada para a cv. Bragantina (Capítulo 3). Assim, quanto maior a severidade, maior será a perda de massa conforme observado para a cv. Bragantina tratada com Qui-C.

Em testes *in vitro* com *F. solani* f. sp. *piperis*, a quitosana apresentou efeito indutor de crescimento micelial (D'ADDAZIO et al., 2016). Em relação aos parâmetros biométricos, no geral, a quitosana apresentou resultados favoráveis ao crescimento da planta, sendo mais visíveis para a cv. Kottanadan, principalmente para MFPA (Figura 2B), NF (Figura 2D), VR (Figura 3D) e DC (Figura 3E).

Os resultados deste trabalho estão de acordo com Nascimento et al. (2007) quando avaliaram o efeito da quitosana em plantas de videira, cv. Castelão, crescidas em substrato inoculado com *Neonectria liriodendri*. Segundo os autores, a quitosana promoveu significativamente o crescimento e o número total de raízes das plantas infectadas, e, simultaneamente, reduziu a incidência da doença em comparação com as plantas controle. Entretanto, o fungo não foi controlado em experimento *in vitro*. A aparente discrepância entre os resultados *in vitro* e *in vivo* é, provavelmente, uma consequência do efeito adicional da quitosana em desencadear uma resposta defensiva nas plantas tratadas.

Prapagdee et al. (2007), avaliando as propriedades antifúngicas de quitosana em plantas de soja inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, verificaram que não houve diferença significativa no comprimento da raiz e altura do caule em todas as concentrações de quitosana testadas e nos controles positivo e negativo, embora um aumento significativo da MSPA em plantas inoculadas e tratadas com 3 mg/ml de quitosana tenha ocorrido. A presença de quitosana foi capaz de induzir a atividade da enzima quitinase, retardando os sintomas da doença. Entretanto, os sintomas da doença apareceram à medida que diminuiu a atividade da enzima. Tais resultados sugerem que o papel protetor da quitosana ainda não é claro. Pinto et al. (2010), verificaram que os resultados obtidos com a quitosana para controlar a murcha de fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*) em crisântemo foram muito variáveis, não sendo possível o estabelecimento de uma resposta padrão, uma vez que a concentração ideal para o controle da doença e a promoção de crescimento da planta foi muito próxima da que causou fitotoxicidade. Outros autores também obtiveram respostas inconclusivas à respeito do papel protetor da quitosana (SCHURT et al., 2013; AGUIAR, 2011).

De acordo com Wheeler (1978), mudanças na permeabilidade da membrana parecem ser características universais de tecidos de plantas doentes, independentemente do tipo de doença ou da natureza do agente patogênico. Neste estudo, os resultados obtidos sugerem que a cv. Bragantina apresenta paredes menos lignificadas, devido à maior severidade da doença quando comparada à cv. Kottanadan e que a presença de enzimas e toxinas fúngicas contribuem para esse processo, conforme postulado por Leslie e Summerell, 2006.

5. CONCLUSÕES

Independentemente da época de aplicação dos produtos, a cv. Kottanadan foi menos afetada pela doença, comparativamente à cv. Bragantina. Esses resultados são embasados pelas correlações negativas entre os parâmetros e a severidade da doença.

Fosfito e Silício são mais eficientes para a supressividade da fusariose e indução de resistência, considerando a invariabilidade da produção de biomassa para a cv. Kottanadan. Quitosana, no geral, apresentou resultados favoráveis ao crescimento da planta, sendo mais visíveis para a cv. Kottanadan, principalmente para MFPA, NF, VR e DC, mas não foi eficiente no controle da fusariose em ambos os modos de aplicação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCIOLY, A.M.A.; CONCEIÇÃO, E.G.J.; ANGELA, P.; ALCOFORADO, U.G.; RODRIGUEZ, M.A.D. Distribuição de Silício em bananeiras inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Anais do Fertibio 2012**, Maceió-Alagoas, 2012.
- AGARIE, S.; HANAOKA, N.; UENO, O.; MIYAZAKI, A.; KUBOTA, F.; AGATA, W.; KAUFMAN, P.B. Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), monitored by electrolyte leakage. **Plant Production Science**, v. 1, p. 96-103, 1998.
- AGUIAR, R.M. Efeito da quitosana sobre a antracnose e características físicas e químicas de frutos de cultivares de bananeiras. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTE, 2011. 84 p.
- ANDREU, A.B.; CALDIZ, D.O. El uso de fosfitos y su contribución al control de tizón tardío y *Fusarium* spp. **Del Campo a la Fabrica**, Balcarce, v. 6, n. 1, p. 3-7, 2006.
- BALASTRA, M.L.F.; PEREZ, C.M.; JULIANO, B.O.; VILLREAL, P. Effects of silica level on some properties of *Oryza sativa* straw and hult. **Canadian Journal of Botany**, v. 67, p. 2356-2363, 1989.
- BARCHIETTO, T.; SAINDRENAN, P.; BOMPEIX, G. Physiological responses of *Phytophthora citrophthora* to a subinhibitory concentration of phosphate. **Pest Biochemistry Physiology**, v. 42, p. 151-66, 1992.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ- LÓPEZ, M.; AIT BARKA, E.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, p. 108–118, 2006.
- BÉLANGER, R.R.; BOWEN, P.A.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Soluble silicon: its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, v. 79, p. 329-336, 1995.
- BENCHIMOL, R.L.; SUTTON, J.C.; DIAS-FILHO, M.B. Potencialidade da casca de caranguejo na redução da incidência de fusariose e na promoção do crescimento de mudas de pimenteira-do-reino. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 180-184, 2006.
- BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defence pathways. **Trends in Plant Science**, v. 1, p. 233-240, 1996.
- CAMILLI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 215-221, 2007.

- CASTRO, P.R.C.; SERCILOTO, C.M.; PEREIRA, M.A.; RODRIGUES, J.L.M. **Utilização de fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: ESALQ, DIBD, 2008. 71p.
- CHÉRIF, M.; BELANGER, R.R. Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on long *English cucumber*. **Plant Disease**, v. 76, p. 1008-1011, 1992.
- COHEN, M.D.; COFFEY, M.D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. **Annual Review Phytopathology**, v. 24, p. 311-338, 1986
- CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.
- D'ADDAZIO, V.; DOS SANTOS, R.A.A.; LEITAO, A.S.B.; DA SILVA, M.B.; FERNANDES, A.A.; FALQUETO, A.R. Evaluation of in vitro inhibition of mycelial growth of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* by different products in Brazil. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 47, p. 1992-1998, 2016.
- DANIEL, R.; WILSON, B.A.; CAHILL, D. The effect of potassium phosphonate on the response of *Xanthorrhoe australis* to infection by *Phytophthora cinnamomi*. **Australasian Plant Pathology**, v. 3, p.541-548, 2005.
- DANNON, E.; WYDRA, K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 64, p. 233-43, 2004.
- DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and plant disease. *In*: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Eds.). **Mineral nutrition and plant disease**. St Paul: The American Phytopathological Society Press, p. 233-246, 2007.
- DERCKS, W.; CREASY, L.L. Influence of fosetyl: al on phytoalexin accumulation in the Plasmopara viticola-grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Orlando, v. 34, n. 3, p. 203-213, 1989.
- DEREN, C.W.; DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; MARTIN, F.G. Silicon concentration, disease response, and yield components of rice genotypes grown on flooded organic histosols. **Crop Science**, v. 34, p. 733-737, 1994.
- DEVLEIGHERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, v. 21, p. 703–14, 2004.
- Di PIERO, R.M.; GARDA, M.V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanase em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1121-1128, 2008.
- DIOGO, R.V.C.; WYDRA, K. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polisaccharide structure. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 70, p. 120-129, 2007.

- DOMINGUES, F. Controle físico e biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* em gengibre. **Dissertação de Mestrado**, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, 2006. 58p.
- DONOGHUE, M.J.; DOYLE, J.A. Phylogenetic analysis of angiosperms and the relationships of *Hamamelidae*. In: CRANE, P.R.; BLACKMORE, S. (Eds.). **Evolution, systematics, and fossil history of the *Hamamelidae***. Clarendon Press, Oxford, UK, vol. 1, p. 17–45, 1989.
- DUARTE, M.L.R.; ALBUQUERQUE, F.C.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Doenças da Pimenteira-do-Reino (*Piper nigrum* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. *et al.* (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. 4ª Edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p.507-516, 2005.
- EMBRAPA - EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Manual Segurança e Qualidade para a Cultura da Pimenta-do-Reino**. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 65 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA. 2004.
- EPSTEIN, E. Silicon in plants: facts vs. concepts. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. The Netherlands: Elsevier Science, p. 1-15, 2001.
- EPSTEIN, L.; KWON, Y.H.; ALMOND, D.E.; SCHACHED, L.M.; JONES, M.J. Genetic and biochemical characterization of *Nectria haematococca* strains with adhesive and adhesion-reduced macroconidia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 524-530, 1994.
- FAUTEUX, F.; RÉMUS-BOREL, W.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 249, p. 1-6, 2005.
- FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 564-570, 2002.
- FERREIRA, H.A. Silício no controle da mancha-aquosa em meloeiro (*Cucumis melo* L.). **Dissertação de Mestrado em Fitossanidade**, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, 2009. 82p.
- GHINI, R. Solarização: histórico, resultados recentes e perspectivas. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p. 139-140, 2004.
- GRAHAM, J.H.; TIMMER, L.W. *Phytophthora* diseases of *Citrus*. **Soil and Science Department**, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1994.
- GRANT, B.R.; GRANT, J.H.; HARRIS, J. Inhibition of growth of *Phytophthora infestans* by phosphate and phosphonate in defined media. **Experimental Mycology**, San Diego, v. 151, p. 430, 1992.

- GUEST, D.I. Evidence from light microscopy of living tissue that Fosetyl-Al modifies the defence response in tobacco seedlings following inoculation by *Phytophthora nicotianae* var *nicotianae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 29, p. 251-261, 1986.
- GUEST, D.I.; BOMPEIX, G. The complex action mode of action of phosphonates. **Australasian Plant Pathology**, v. 19, p. 113-115, 1990.
- GUEST, D.I.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**, v. 66, p. 159-187, 1991.
- JACKSON, T.J. *et al.* Action of the fungicide phosphate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 49, n. 1, p. 147-154, 2000.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ª edição. São Paulo: Ceres, v. 2, 1997. 774p.
- LAURETT, L.; FERNANDES, A.A.; SCHMILDT, E.R.; ALMEIDA, C.P.; PINTO, M.L.B. Desempenho da alface e da rúcula em diferentes concentrações de ferro na solução nutritiva. Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 1, p. 45-52, 2017.
- LAVIOLA, B.G.; MARTINEZ, H.E.P.; SOUZA, R.B.; ALVAREZ V., V.H. Dinâmica de cálcio e magnésio em folhas e frutos de *Coffea arabica*. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 31, p. 319-329, 2007.
- LEE, S.; CHOI, H.; SUH, S.; DOO, I.S.; OH, K.Y.; CHOI, E.J.; TAYLOR, T.S.; LOW, P.S.; LEE, Y. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. **Plant Physiology**, v. 121, p. 147-152, 1999.
- LEMO, O.F.; POLTRONIERI, M.C; MENEZES, I.C.; MONDIM, M. Conservação e melhoramento genético da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) em associação com as técnicas de biotecnologia. Belém, Pará: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2011.
- LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The Fusarium laboratory manual**. Malden: Blackwell Publishers, 2006.
- LOCONTE, H.; STEVENSON, D.W. Cladistics of the *Magnoliidae*. **Cladistics**, v. 7, n. 3, p. 267-296, 1991.
- LOPES, A.C.F. Efeito de fontes de silício no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Dissertação de Mestrado em Fitopatologia**, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2006. 67f.
- LOVATT, C.J.; MIKKELSEN, R.L. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? **Better Crops**, v. 90, p. 1-11, 2006.

- MA, J.F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. *In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H. & KORNDÖRFER, G.H. (Eds.). Silicon in Agriculture*. The Netherlands: Elsevier Science, p. 17-39, 2001.
- MA, J.F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, p. 3049-3057, 2008.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Ceres, 2006. 443 p.
- MASCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ª edição. New York: Academic Press, 1995. 887p.
- MAZARO, S.M; DESCHAMPS, C.; DE MIO, L.L. M; BIASI, L.A.; GOUVEA, A.; SAUTTER, C.K. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-S-metil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 185-190, 2008.
- McDONALD, A.E.; GRANT, B.; PLAXTON, W.C. Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal Plant Nutrition**, v. 24, p. 1505-1519, 2001.
- MCGRATH, M.T. **What are fungicides: the plant health instructor**. 2004. Disponível em: <http://www.apsnet.org/education/introplantpath/topics/fungicides/default.htm>
- NASCIMENTO, A.R.; FERNANDES, P.M.; ROCHA, M.R.; SILVA, E.A. Fontes de fosfito e acibenzolar-S-metil no controle de doenças e produtividade do tomateiro. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 1, p. 53-59, 2008.
- NASCIMENTO, T.; REGO, C.; OLIVEIRA, H. Potential use of chitosan in the control of grapevine trunk diseases. **Phytopathology Mediterran**, v. 46, p. 218–24, 2007.
- NICOLE, L.R. Levantamento de solos da Fazenda Experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus, ES. **Trabalho de Conclusão de Curso - TCC**, Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus – CEUNES, 2014. 37p.
- NOJOSA, G.B.A. Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDI. **Tese de Doutorado em Fitopatologia**, Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2003. 102p.
- NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. *In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.P.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds). Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos*. FEALQ, Piracicaba, p. 139-153, 2005.
- OKUDA, A.; TAKAHASHI, E. Studies on the physiological role of silicon in crop plant. Part 9. Effect of various metabolic inhibitors on the silicon uptake by rice plant. **Journal Science of Soil Manure**, v. 33, p. 453-455, 1962.
- OTHA, K.; ATARASHI, H.; SHIMATANI, Y.; MATSUMOTO, S.; ASAO, T.; HOSOKI T. J. JPN. **Society Horticulture Science**, v. 69, n. 1, p. 63, 2000.

- OTHA, K.; MORISHITA, S.; SUDA, K.; KOBAYASHI, N.; HOSOSKI, T. J. Japan. **Society Horticulture Science**, v. 73, n. 1, p. 66, 2004.
- PASCHOLATI, S.F.; MELO, T.A.; BRAND, S.C.; REZENDE, D.C.; NOGUEIRA JÚNIOR, A.F.; SILVA JÚNIOR, M.B.; RESENDE, M.L.V. Indução de resistência no controle de fitopatógenos: registro de indutores e uso comercial no Brasil. *In*: SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SILVA, C.M.; MAIA, A.J.; FARIA, C.M.D.R.; COLELLA, J.C.T. (Eds.). **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. Maringá: Sprema Gráfica e Editora, v. 1, p. 233-253, 2014.
- PEGG, K.G.; WHILEY, A.W.; SARANAH, J.B.; GLASS, R.J. Control of *Phytophthora* root rot of avocado with phosphorous acid. **Australasian Journal of Plant Pathology**, Collingwood, v. 14, p. 25-29, 1985.
- PEREIRA, R.B. LUCAS, G.C.; PERINA, F.J.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; ALVES, E. Óleo essencial de citronela no controle e na ativação de respostas de defesa do cafeeiro contra a ferrugem e cercosporiose. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 383-390, 2012.
- PINTO, Z.V.; BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Efeito de casca de camarão, hidrolisado de peixe e quitosana no controle da murcha de *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* em crisântemo. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 16-23, 2010.
- POZZA, A.A.A.; CARVALHO, J.G.; GUIMARÃES, P.T.G.; FIGUEIREDO, F.C.; ARAÚJO, A.R. Suprimento do silicato de cálcio e a eficiência nutricional de variedades de cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 33, p. 1705-1714, 2009.
- PRAPAGDEE, B.; KOTCHADAT, K.; KUMSOPA, A. *et al.* The role of chitosan in protection of soybean from sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1353-1358, 2007.
- PREZOTTI, L.C.; GOMES, J.A.; DADALTO, G.G.; OLIVEIRA, J.D. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo**. 5ª edição. Vitória: SEEA/Incapar/Cedagro, 2007. 305p.
- RABEA, E.I.; BADAWY, M.E.T.; STEVENS, C.V.; SMAGGHE, G.; STEURBAUT, W. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 6, p. 1457, 2003.
- RAINS, D.W.; EPSTEIN, E.; ZASOSKI, R.J.; ASLAM, M. Active silicone uptake by wheat. **Plant Soil**, v. 280, p. 223-228, 2006.
- REZENDE, D.C. Fosfito de potássio no controle de *Phytophthora* spp. em citros e faia e seu modo de ação. **Tese de Doutorado**, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, 2014. 108p.
- RODRIGUES, F.A.; DATNOFF, L.E. Silicon and rice disease management. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 457-469, 2005.
- SADANANDAN, A.K. Agronomy and Nutrition of Black Pepper. *In*: RAVINDRAN, P.N. (Ed.) **Medicinal and Aromatic Plants: Black Pepper, Piper nigrum**. India: Indian Institute of Spices Research, v. 13, cap. 4, p. 163-224, 2000.

- SAINDRENAN, P.; BARCHIETTO, T.; BOMPEIX, G. Effects of phosphonate on the elicitor activity of culture filtrates of *Pytophthora cryptogea* in *Vigna unguiculate*. **Plant Science**, v. 76, p. 245-251, 1990.
- SANTOS, H.A. *Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum*. **Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias**, Universidade de Brasília - UnB, 2008. 94p.
- SARRIA VILLA, G.A. Indução de resistência em citros contra *Phytophthora citrophthora* e *Phytophthora nicotianae*: método de inoculação, seleção de indutores, aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Dissertação de Mestrado**, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ, 2010. 85p.
- SAVANT, N.K.; SNYDER, G.H.; DATNOFF, L.E. Silicon management and sustainable rice production. **Advances in Agronomy**, v. 58, p. 151-199, 1997.
- SCHURT, D.A.; RODRIGUES, F.Á.; SOUZA, N.F.A.; REIS, R.D. Eficiência de diferentes moléculas na redução dos sintomas da queima das bainhas em arroz e no crescimento de *Rhizoctonia solani* in vitro. **Revista Ceres**, v. 60, p. 221–225, 2013.
- SILVA, A.C.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, P.E.; SILVA, N.C.N.; SILVA JR, M.B.; VITORINO, L.R.R. Coffee-leaf extract and phosphites on the curative control of powdery mildew in eucalyptus mini-stumps. **Forest Pathology**, v. 43, p. 118-126, 2013.
- SILVA, S.O.; NETO, A.P.D.; SILVA, M.B. Pimenta-do-reino: importância da defesa fitossanitária para a sustentabilidade da atividade na região norte do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 1, n. 1, p. 88-92, 2011.
- SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. **Phytopathology**, v. 79, p. 921-926, 1989.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. São Paulo, 2013.
- TAKAHASHI, E; MA, J.F.; MIYAKE, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Comments Agriculture Food Chemistry**, v. 2, p. 99- 122, 1990.
- TREMACOLDI, C.R. Principais Doenças Fúngicas da Pimenteira-do-Reino no Estado do Pará e Recomendações de Controle. **Embrapa Amazônia Oriental**, Belém-PA, p. 25, 2010.
- TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S. Doenças da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A. *et al.* (Eds). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 579-593, 1997.
- VAZ, A.B. Caracterização biológica e filogenética do agente etiológico da Fusariose da Pimenta-do-Reino no Brasil. **Tese de Doutorado em Agronomia/Fitopatologia**, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2013. 62p.

- VISCONTI, A. Fontes de matéria orgânica para inibição de fitopatógenos habitantes do solo. **Dissertação de Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas**, Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2008. 61p.
- VITTI, G.C.; LUZ, P.H. C.; OTTO, R.; QUEIROS, F.E.C.; PACKER, L.A. Utilização de fosfito em cana-de-açúcar. *In: Simpósio de tecnologia de produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, Campinas: Intercuf. Ind. e comercio LDTA, p. 17, 2005.
- WANG, L. *et al.* Genetic variability for root hair traits as related to phosphorus status in soybean. **Plant and Soil**, v. 261, p. 77-84, 2004.
- WEELS, K.L.; DOLLARHIDE, J.E.; MUNDELL Jr., R.E. Effect of phosphite phosphorous on alfafa growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. New York, v. 31, n. 15/16, p. 2707-2715, 2000.
- WHEELER, H. Disease alterations in permeability and membranes. *In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. (Eds.). Plant disease – an advanced treatise*. v. 2. How plants suffer from disease. London: Academic Press, Inc., v. 2, p. 327-347, 1978.
- WILSON, P.J.; THOMPSON, K.; HODGSON, J.G. Specific leaf area and dry leaf matter content as alternative predictors of plant strategies. **The New phytologist**, v. 143, p. 155–162, 1999.
- ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Resistência a doenças induzidas pela nutrição mineral das plantas. **Potafos- Informe Técnico**, Piracicaba, n. 75, p. 1-16, 1996.
- ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Mecanismos gerais de atuação dos nutrientes sobre a severidade de doenças de plantas. *In: ZAMBOLIM, L.; Ventura, J.A.; ZANÃO JÚNIOR, L.A. (Eds.). Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas*. Viçosa: Editora UFV, p. 23-45, 2012.
- ZANÃO JÚNIOR, L.A. Resistência do arroz à mancha-parda mediada por silício e manganês. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 2007. 125p.
- ZANÃO JÚNIOR, L.A.; FONTES, R.L.F.; ÁVILA, V.T. Silicon application to increase rice resistance to brown spot. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 203, 2009.
- ZANÃO JÚNIOR, L.A. Importância e função dos nutrientes no crescimento e desenvolvimento de plantas. *In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A.; ZANÃO JÚNIOR, L.A. (Eds.). Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas*. Viçosa: Editora UFV, p. 3-22, 2012.

**CAPÍTULO 5 - Influência de Silício, Fosfito e Quitosana na fluorescência da clorofila
a, pigmentos fotossintetizantes e trocas gasosas em plantas de pimenta-do-reino
inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis***

Verônica D'Addazio^{1*} • Adriano Alves Fernandes² • Marcelo Barreto da Silva² • Antelmo
Ralph Falqueto²

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais,
Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal,
CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo,
Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, CEP 29932-900, São Mateus, ES, Brasil.

*Autor para correspondência: veronicaddazio@yahoo.com

Periódico a ser submetido ou submetido: a ser definido

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho fotossintético de plantas de pimenta-do-reino, cv. Bragantina e Kottanadan, no patossistema *Piper nigrum* x *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, visando caracterizar as respostas de resistência das cultivares ao fungo e analisar os efeitos dos produtos alternativos utilizados para controle da fusariose na eficiência do fotossistema II (FSII). O experimento foi realizado em casa de vegetação seguindo um Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 3 fatores e 4 controles. As avaliações foram feitas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software Genes 3.1. Plantas de pimenta-do-reino com 4 meses de idade foram transplantadas para vasos com capacidade para 5L, e aclimatadas até 6 meses de idade, quando produtos foram aplicados. Os produtos Silício, Fosfito e Quitosana foram adicionados aos vasos 30 e 15 dias antes da inoculação (aplicação preventiva) e 15 e 30 dias após a inoculação (aplicação curativa). Aos 180 dias após a inoculação, os teores relativos de clorofila *a*, *b* e total, a fluorescência da clorofila *a* foram avaliados. As avaliações de trocas gasosas foram feitas aos 150 DAI. Menores valores de clorofila *a*, *b* e total foram observados para a cv. Bragantina, e correlacionados com o aumento da severidade da doença. Heterogeneidade das curvas OJIP e desvios positivos para banda L e K indicaram susceptibilidade da cv. Bragantina à fusariose. Além disso, menores valores na eficiência fotoquímica máxima do FSII (F_v/F_m), assimilação líquida de carbono (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e eficiência da carboxilação (A/C_i) associados a maiores valores de carbono interno (C_i) sugerem que menor influxo de CO₂ em plantas inoculadas da cv. Bragantina foram causadas por limitações fotoquímicas e bioquímicas. Esses dados são suportados pela correlação positiva entre *A* e *g_s*, a correlação negativa entre *A* e C_i , a correlação negativa entre C_i e F_v/F_m e a correlação positiva entre a severidade da doença e C_i . No geral, os parâmetros de teor relativo de clorofila, fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas foram menos afetados na cv. Kottanadan. Portanto, independentemente da severidade da doença, todas as plantas inoculadas com *F. solani* f. sp. *piperis* permanecem fotossinteticamente ativas após 180 dias. Danos ao complexo de evolução do oxigênio e na conectividade energética ocorrem na cv. Bragantina infectada pelo fungo. A fotossíntese e pigmentos fotossintéticos são significativamente reduzidos durante o processo de infecção por *F. solani* para a cv. Bragantina, mostrando que essa cultivar não apresenta comportamento

favorável à supressividade da doença. Além disso, a cultivar Kottanadan é resistente ao fusarium comparativamente à cv. Bragantina. Por fim, a redução da fluorescência inicial (F_0), fluxo específico de absorção por centro de reação (ABS/RC) e fluxo específico de dissipação por centro de reação (DI_0/RC) após a aplicação do Si-C evidencia a eficiência desse produto sobre a supressividade de *F. solani* na cv. Bragantina.

Palavras-chave: Bragantina • fotossíntese • fusariose • Kottanadan • limitações bioquímicas • OJIP •

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the photosynthetic performance of black pepper plants, cv. Bragantina and Kottanadan, in the pathosystem *Piper nigrum* x *Fusarium solani* f. sp. *piperis* in order to characterize the resistance responses of black pepper cultivars to fungi and to analyze the effects of alternative products used to control fusariosis on the efficiency of photosystem II (PSII). The experiment was performed under greenhouse conditions following a randomized block design (RBD), with 3 factors and 4 controls. The evaluations were made using the grouping test of Scott-Knott. All data were submitted to analysis of variance (ANOVA) using Genes 3.1 software. Four-months-old black pepper plants were transplanted in 5-L pots (one plant per pot), and acclimated until six-months-old, when the products were applied. The products Silicon, Phosphite and Chitosan were added in each pot 30 and 15 days before the inoculation (preventive application) and 15 and 30 days after the inoculation (curative application). 180 days after inoculation (DAI), the relative content of chlorophyll *a*, *b* and total, the chlorophyll *a* fluorescence were evaluated. Gas exchange evaluations were made after 150 DAI. Lower values of chlorophyll *a*, *b* and total were observed for Bragantina cultivar, and it were correlated with the increased disease severity. Heterogeneity of OJIP curves and positive deviations of L and K-band indicated susceptibility of the cv. Bragantina to fusariosis. Furthermore, decreased values of maximum efficiency of PSII (F_v/F_m), net CO₂ assimilation (A), stomatic conductance (gs), transpiration (E) and carboxylation efficiency (A/Ci) associated with higher internal CO₂ concentration (Ci) values suggest that the lower CO₂ influx in Bragantina cultivar inoculated were caused by photochemical and biochemical limitations. These data are supported by the positive correlation between A and gs, the negative correlation between A and Ci, the negative correlation between Ci and F_v/F_m , and the positive correlation between disease severity and Ci. In general, the chlorophyll content, chlorophyll *a* fluorescence and gas Exchange parameters were low affected in Kottanadan black pepper cultivar. Therefore, independently of disease severity, all inoculated plants remain photosynthetically active after 180 days of inoculation. Damages on oxygen evolution complex and energetic connectivity occur in Bragantina cultivar infected by fungi. Reduced photosynthesis and photosynthetic pigments occurring during fungi infection by *F. solani* in Bragantina cultivar show us desfavorable behavior to the disease suppressivity. In addition, the Kottanadan cultivar is resistant to *Fusarium* compared to

Bragantina. Finally, reduced initial fluorescence (F_0) and absorption and dissipation energy flux per reaction center (ABS/RC and DI_0 /RC, respectively) values after the application of Si-C give us evidence of its efficiency on *F. solani* suppressivity for Bragantina pepper cultivar.

Keyword: Bragantina • biochemical limitations • fusariosis • Kottanadan • OJIP • photosynthesis •

1. INTRODUÇÃO

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), nativa das florestas úmidas da Costa do Malabar no sudoeste da Índia (NELSON e CANNON-EGGER, 2009) é uma planta perene, semi-lenhosa e trepadeira. O gênero *Piper* pertence à classe das Eudicotiledôneas, ordem *Piperales* e família *Piperaceae*. (EMBRAPA, 2004).

A *P. nigrum* é considerada como a única especiaria cujos frutos podem ser comercializados em 4 diferentes versões de grãos (preta, branca, verde e vermelha), embora a sua forma mais comum de comercialização seja a preta (EMBRAPA, 2004; PISSINATE, 2006). Além disso, é uma das mais valorizadas condimentares do mundo, com grande valor econômico, permitindo que a atividade desenvolvida pelos pipericultores seja altamente rentável (LIMA et al., 2010).

Entretanto, a cultura é atacada por várias doenças (ALBUQUERQUE e DUARTE, 1991). A fusariose, também conhecida por podridão-do-pé, podridão-das-raízes e mal-de-mariquita é a principal doença da cultura de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), de ocorrência restrita ao Brasil (KIMATI et al., 1997; TRINDADE e POLTRONIERI, 1997; TREMACOLDI, 2010). O agente causal da fusariose é o *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. emend. Syd. & Hans. f. sp. *piperis*, Albuquerque (Teleomorfo *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque) (DUARTE et al., 2005).

Embora a pipericultura seja de grande importância no cenário regional, nacional e internacional, a atividade, frequentemente é relegada ao esquecimento. A falta de pesquisas para melhoramento, manejo e combate às doenças revelam a falta de conhecimento científico sobre a cultura. Assim, mesmo doenças tão devastadoras como a fusariose não são totalmente estudadas, e as técnicas de prevenção e combate a esta e outras doenças não são totalmente eficientes (SILVA et al. 2011). Apesar disso, o controle alternativo de doenças de plantas tem sido discutido por diversos autores, onde produtos naturais, alternativos aos fungicidas tradicionais, apresentam potencial no manejo das doenças em diferentes culturas (DATNOFF et al., 2007; NOJOSA et al., 2005; LOVATT e MIKKELSEN, 2006; PASCHOLATI et al., 2014; BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006; MAZARO et al., 2008).

Vários tipos de estresses abióticos e bióticos que são impostos às plantas podem causar mudanças no seu crescimento e desenvolvimento (BERGER et al., 2007). Os agentes patogênicos afetam a fisiologia da planta impactando negativamente as trocas

gasosas ou diminuindo a eficiência do processo fotossintético (SHTIENBERG, 1992), a qual, por sua vez, pode ser quantificada utilizando-se a técnica da fluorescência da clorofila *a*, considerada não-invasiva e muito sensível aos estresses bióticos e abióticos (CHRISTEN et al. 2007; BAURIEGEL et al. 2010; ROLFE e SCHOLEES 2010). De acordo com Maxwell e Johnson (2000) e Murchie e Lawson (2013), os resultados obtidos por meio do uso da técnica fornecem informações sobre o transiente OJIP, a eficiência da fotossíntese e a integridade do aparato fotossintético das plantas. Entretanto, poucos trabalhos relatam o uso do transiente OJIP para quantificar as mudanças na eficiência fotoquímica causadas por doenças fúngicas ou por seus agentes patogênicos (AJIGBOYE et al., 2016). Tem sido observado que, para as diferentes interações planta-patógeno, reduções na concentração de pigmentos associadas a menores eficiências fotoquímicas, danos estruturais aos cloroplastos, deficiências na dissipação de energia e o aumento da temperatura da folha são os efeitos negativos mais notáveis que resultam da infecção por patógenos (PETIT et al., 2006; ZHAO et al., 2011; RESENDE et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho fotossintético de plantas de pimenta-do-reino, cv. Bragantina e Kottanadan, no patossistema *Piper nigrum* x *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, visando caracterizar as respostas de resistência das cultivares ao fungo e detectar os efeitos dos produtos alternativos utilizados para controle da fusariose na eficiência do fotossistema II (FSII).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. *Material vegetal e cultivo*

Mudas de pimenta-do-reino, cv. Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), com 4 meses de idade, foram obtidas do Viveiro Pingo de Ouro (Córrego do Giral, Jaguaré-ES), credenciado pelo Registro Nacional de Sementes e Mudas - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RENASSEM). As mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 5L e tutoradas em estacas de madeira medindo 2 cm² x 1m de comprimento. Todos os vasos foram devidamente colocados sob pallets de madeira para evitar contato direto com o solo ambiente.

O desenvolvimento das plantas ocorreu em viveiro, com sombrite à 50%, situado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo (CEUNES/UFES). Neste período, as plantas foram irrigadas diariamente e nos meses mais quentes, a irrigação foi feita duas vezes ao dia. Três vezes por semana, as plantas foram irrigadas com 100 mL de solução nutritiva 2 com 100% de força iônica (adaptado de FERNANDES et al., 2002). Esse procedimento foi realizado até as plantas completarem 6 meses de idade, quando iniciou-se a aplicação dos produtos de controle da fusariose. Após a aplicação dos produtos, as plantas receberam 50 mL de solução nutritiva, duas vezes por semana, até o fim do experimento, por 6 meses (ANEXO 5).

Aos 5 meses de idade, as plantas foram podadas em corte bisel, entre o quarto e quinto ramo plageotrópico, para estimular a brotação lateral e formação da copa.

2.2. *Tratamento do solo*

O solo utilizado para cultivo das plantas foi retirado da Fazenda experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES) e classificado como Planossolo Háplico, franco argilo arenoso, fase relevo plano (NICOLE, 2014).

A solarização foi baseada em Ghini (2004) e realizada por um período de 3 meses. A calagem foi feita de acordo com a recomendação da análise de solo. Para a adubação do m³ de solo foi utilizado 3,12kg CaNO₃, 2,3kg NH₄H₂PO₄, 750g KCl, 400g MgSO₄, 39g CuSO₄, 92g H₃BO₃, 91g MnSO₄ e 340mg ZnSO₄ (Adaptado de PREZOTTI et al, 2007).

2.3. Produtos alternativos de controle da fusariose

A fonte de fosfito utilizada foi Fosetyl-Al (Bayer[®]) e seguiu a dose recomendada para a cultura do café, correspondendo a 2,0 kg de produto comercial/hectare (1000 plantas). De acordo com a Embrapa (2004), 1 hectare de pimenta-do-reino corresponde a 1600 plantas.

A fonte de silício foi o Silicato de Cálcio (Aldrich Chemistry[®]), e a dose recomendada foi de 1g/kg de solo (ACCIOLY et al. 2012). Silício e fosfito foram diluídos em água destilada para serem adicionados aos vasos em três pontos previamente marcados ao redor do coleto da planta. Os produtos foram aplicados utilizando-se uma seringa com volume de 10 mL.

A dose de Quitosana (Fagron[®]) utilizada foi de 1g/kg de solo (baseada em PINTO et al., 2010 e BENCHIMOL et al. 2006). Por ser insolúvel em água, sua adição aos vasos foi na forma de pó, em três pontos previamente marcados ao redor do coleto da planta.

Os produtos foram adicionados aos vasos em duas aplicações: antes da inoculação do fungo (preventivo) e após a inoculação (curativo). A aplicação dos produtos preventivamente ocorreu 30 e 15 dias antes da inoculação e a aplicação curativa foi realizada 15 e 30 dias após a inoculação.

Os controles positivo (sem inoculação) e negativo (com inoculação) não receberam os produtos.

2.4. Material biológico e cultivo

Foi utilizado o isolado de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* CML 2466, da Coleção Micológica de Lavras, Universidade Federal de Lavras – MG. O fungo foi mantido em placas de Petri contendo o meio BDA (Batata Dextrose Ágar), à 4°C. Para a inoculação, discos de 5 mm da cultura pura foram transferidos para placas de Petri, contendo o mesmo meio. As placas foram incubadas à 25°C em B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand), com fotoperíodo de 12h, por 15 dias.

2.5. Suspensão de esporos

A suspensão de esporos de *F. solani* foi preparada pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada a cada placa contendo o fungo, sendo estas raspadas com alça de Drigalsky, para uma eficiente extração dos esporos. A Contagem de esporos foi realizada

em Câmara de Neubauer e a suspensão foi ajustada para uma concentração de 10^8 esporos por mL^{-1} .

2.6. Inoculação dos vasos

Um volume de 10 ml da suspensão de esporos na concentração citada foi adicionado a cada vaso, próximo ao coleto das plantas. Aos vasos do tratamento controle positivo foi adicionado 10 ml de água destilada esterilizada (ANEXO 6).

Após a finalização do experimento, o patógeno foi reisolado com o intuito de completar o Postulado de Koch (ANEXO 7)

2.7. Determinação do teor relativo de clorofila

O teor de clorofila *a*, *b* e total foi obtido indiretamente (método não-destrutível) utilizando-se um clorofilômetro marca ClorofiLOG, modelo CFL 1030, conforme as instruções do fabricante e expresso em uma unidade adimensional, chamada Índice de Clorofila Falker (ICF) (FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA, 2008). As medições foram efetuadas na terceira folha totalmente expandida (no sentido do ápice para a base da planta). Foram feitas cinco leituras em cinco folhas de cada vaso, evitando-se regiões de nervura e danificadas por pragas ou patógenos, sendo utilizado para análise o valor médio (metodologia adaptada de SANTIAGO et al., 2009). As análises foram realizadas aos 180 dias após a inoculação (DAI).

2.8. Fluorescência da Clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi medida utilizando-se um fluorômetro portátil Handy-PEA (Hansatech, King's Lynn, Northfolk, England). Antes das medições, as amostras foram adaptadas ao escuro por 30 min, usando um clip foliar (Hansatech). A intensidade de luz vermelha (650 nm) saturante foi de $3000 \text{ mmol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, suficiente para gerar a fluorescência máxima para todos os tratamentos. As intensidades de fluorescência foram medidas por 1 s de iluminação por um pulso de luz saturante em uma área foliar de 4mm de diâmetro, conforme metodologia seguida por Tsimili-Michael e Strasser (2008). Em 1s de medição foram registrados 120 pontos de fluorescência (Handy PEA Manual do usuário). A fluorescência transiente OJIP aos $50\mu\text{s}$ foi considerada como F_o e foi analisada de acordo com o teste JIP (STRASSER e STRASSER, 1995) e seus

parâmetros analisados através do software Biolyzer (Laboratório de Bioenergética, Universidade de Genebra, Suíça). As curvas da fluorescência transiente OJIP foram normalizadas como Fluorescência variável relativa entre os pontos O (50 μ s) e K (300 μ s) [$V_{OK} = (F_t - F_0) / (F_k - F_0)$] e entre os pontos O (50 μ s) e J (2 ms) [$V_{OJ} = (F_t - F_0) / (F_j - F_0)$]. Obtida a fluorescência variável (V_{OK} e V_{OJ}), calculou-se as diferenças cinéticas entre as plantas submetidas ao estresse e as plantas controle [$\Delta V = V$ (tratamento) - V (controle)]. O teste-JIP foi analisado com base na Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas (STRASSER e STRASSER, 1995; STRASSER et al., 2004). Os parâmetros utilizados neste estudo foram: fluorescência inicial (F_0), o rendimento quântico fotoquímico máximo ou eficiência fotoquímica máxima do FSII [$(\phi P_0 = TR_0 / ABS = F_v/F_m)$]; os fluxos específicos por centro de reação (RC) em termos de absorção [$ABS/RC = M_0/VJ/\phi P_0$] e dissipação [$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$]; índice de desempenho para conservação de energia para redução dos aceptores finais do FSI [$PI_{total} = (RC/ABS) \cdot (\phi P_0/(1-\phi P_0)) \cdot (\Psi E_0/(1 - \Psi E_0)) \cdot (\delta R_0/(1 - \delta R_0))$]. As análises foram realizadas aos 180 DAI (ANEXO 16).

2.9. Determinação dos parâmetros de trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram feitas aos 150 DAI, no período de 7h às 11h, na terceira folha totalmente expandida (no sentido do ápice para a base da planta). Para isso foi utilizado o sistema portátil de determinação de gases a infravermelho (IRGA, LCpro-SD, ADC BioScientific). Foram determinadas a taxa de assimilação líquida de carbono ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ($gs - \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e taxa de transpiração ($E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) sob concentração de $\text{CO}_2 \sim 385\text{-}410$ ppm. A densidade de fluxo de fótons utilizada foi de 1000 $\mu\text{mol de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A partir dos dados de trocas gasosas obtidos, foram estimados a eficiência intrínseca do uso da água, dada pela razão entre A e gs ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) e a eficiência de carboxilação estimada pela razão entre A e Carbono interno (C_i) ($\mu\text{mol mmol}^{-1} \text{ ppm}^{-1}$) (ANEXO 17).

2.10. Delineamento experimental

O experimento foi realizado em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 3 fatores e 4 controles. O primeiro fator representado pelas cultivares (cv.) Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), o segundo fator representado pelos produtos silício, fosfito e quitosana (Si, Fos e Qui) e o terceiro fator representado pela época de

aplicação: preventiva (P) e curativa (C). Apesar dos tratamentos serem compostos por 3 fatores e seus respectivos níveis, a análise em esquema fatorial limitaria a comparação com os controles positivo e negativo para cada cultivar. Assim, na análise de variância, desconsiderou-se os efeitos dos fatores e suas interações e, no desdobramento da mesma, realizou-se teste de agrupamento de Scott-Knott. Foram utilizadas 3 repetições, totalizando 48 parcelas, com 10 plantas por parcela (Figura 1). Para o estudo das relações entre as variáveis, foram realizadas análises de correlação linear de Pearson (r). A significância das correlações foi analisada pelo teste “t” de Student em nível de 5% de probabilidade. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do software Genes 3.1 (CRUZ, 2016).

Bloco 1	Fos-P (KOT)	Qui-C (KOT)	Qui-P (BRA)	CN (BRA)	Si-P (BRA)	Qui-C (BRA)	CP (KOT)	Si-C (BRA)
	CP (BRA)	Si-P (KOT)	Fosf-C (KOT)	Fos-P (BRA)	Si-C (KOT)	CN (KOT)	Fos-C (BRA)	Qui-P (KOT)
Bloco 2	Qui-P (KOT)	Si-C (KOT)	Si-P (BRA)	CN (KOT)	Fos-C (BRA)	Fos-P (KOT)	CP (BRA)	Qui-C (BRA)
	CP (KOT)	Fos-P (BRA)	Qui-C (KOT)	Qui-P (BRA)	Si-C (BRA)	CN (BRA)	Fos-C (KOT)	Si-P (KOT)
Bloco 3	Fos-C (BRA)	Si-P (KOT)	CP (KOT)	Qui-P (KOT)	Si-C (BRA)	Fos-P (BRA)	CN (BRA)	Si-C (KOT)
	Si-P (BRA)	CN (KOT)	Qui-C (BRA)	Fos-C (KOT)	Qui-P (BRA)	CP (BRA)	Qui-C (KOT)	Fos-P (KOT)

Figura 1: Disposição dos tratamentos em viveiro, localizado no Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES/UFES).

KOT – Kottanadan; Bra – Bragantina

CP – controle positivo (sem inóculo); CN – controle negativo (com inóculo)

Fos-P = fosfito preventivo; Si-P = silício preventivo; Qui-P = quitosana preventivo

Fos-C = fosfito curativo; Si-C = silício curativo; Qui-C = quitosana curativo

3. RESULTADOS

3.1. Determinação do teor relativo de clorofila

Observou-se diferença significativa ($p \leq 0,01$) nos teores de clorofila *a*, *b* e total, com maiores valores obtidos para a cv. Kottanadan comparativamente à cv. Bragantina (Figura 4). Para a cv. Kottanadan, o teor de clorofila *a* e *b* foi significativamente maior para todos os tratamentos, exceto para o CN (Figura 2 A,B). Nenhuma diferença no teor de clorofila total entre tratamentos foi observada para a cv. Kottanadan (Figura 2C).

Para a cv. Bragantina, maiores teores de clorofila *a* foram observados para os tratamentos Qui-P e Si-C (Figura 2A). Os teores de clorofila *b* e clorofila total foram similares em todos os tratamentos e controles, exceto para Qui-C (Figura 2B) e para Si-C (Figura 2C).

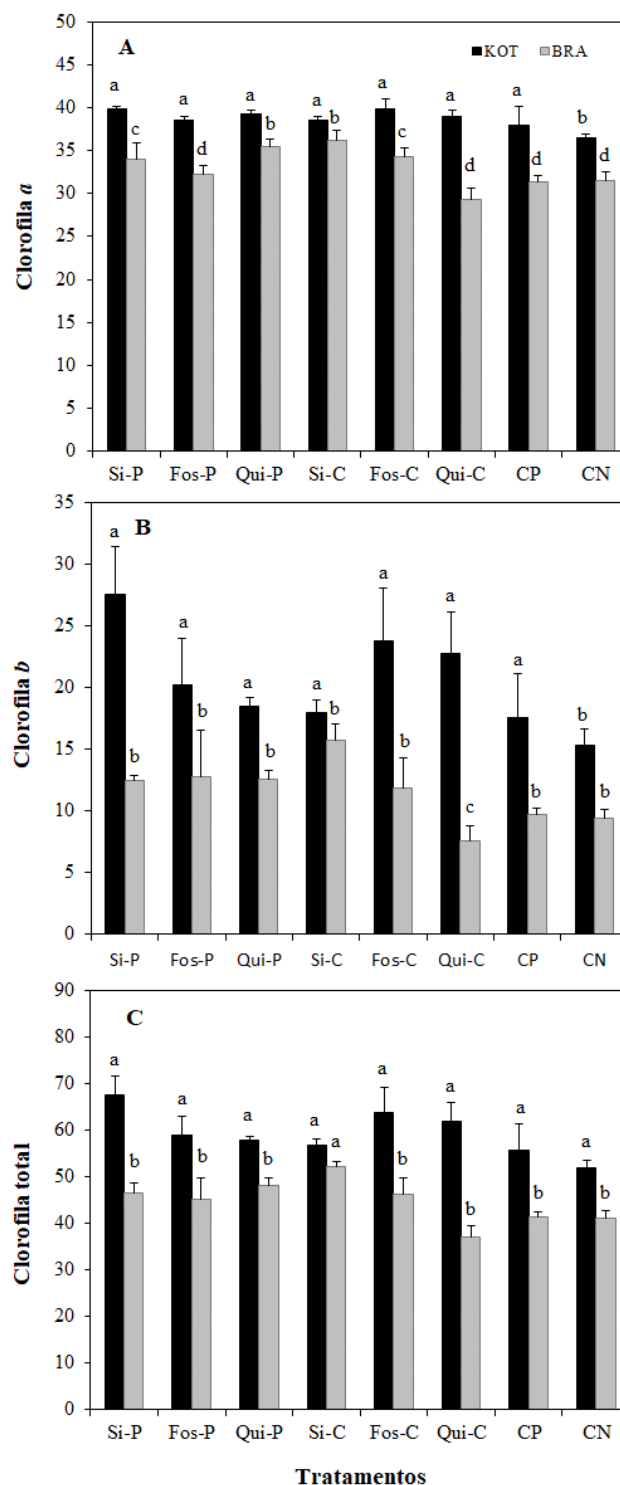


Figura 2: Teor relativo de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e clorofila total (C) em plantas de pimenta-do-reino, cv. Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), suplementadas com silício, fosfito e quitosana (Si, Fos e Qui), com aplicação preventiva (P) e curativa (C). As plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP); controle negativo (CN). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

3.2. Fluorescência da Clorofila *a*

Como apresentado na Figura 3, todos os tratamentos e controles de ambas as cultivares de pimenta-do-reino apresentaram curvas OJIP com comportamento polifásico típico, com pontos intermediários J e I bem definidos. Para a cv. Kottanadan, aumentos dos pontos J, I e P foram observados para todos os tratamentos comparativamente à condição controle (CP e CN), exceto para Qui-C (Figura 3A). Por outro lado, para a cv. Bragantina, reduções nos pontos J, I e P ocorreram para os tratamentos Qui-P, Qui-C e Fos-P comparativamente ao controle negativo (Figura 3B). Além disso, a heterogeneidade do transiente OJIP aumentou com a infecção fúngica para a cv. Bragantina (Figura 3B).

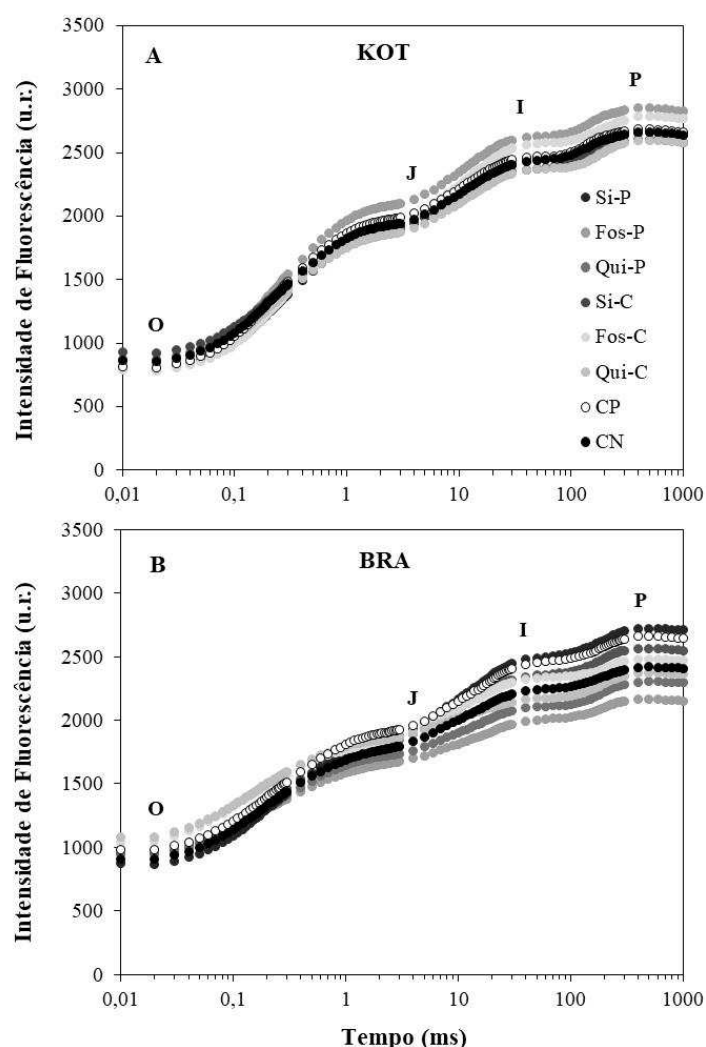


Figura 3: Curva da fluorescência transiente OJIP da clorofila *a* em folhas de pimenta-do-reino, cultivares Kottanadan (A) e Bragantina (B), inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e suplementadas com silício, fosfíto e quitosana (Si, Fos e Qui), preventivamente (P) e curativamente (C). Controle positivo (CP): sem fungo e sem produto; controle negativo (CN): com fungo e sem produto. Para a realização das análises, as folhas foram previamente adaptadas ao escuro, durante 30 minutos.

Para a cv. Kottanadan, banda L negativa foi observada em todas as plantas tratadas preventivamente com Si e Fos e para CP e CN, com maior amplitude para o tratamento com Si. Por outro lado, banda L positiva foi observada para o tratamento Qui-P (Figura 4A). Para a aplicação curativa, todos os tratamentos e CN apresentaram banda próxima ao CP, exceto o tratamento com Fos, para o qual maior amplitude negativa foi observada (Figura 4B).

A cv. Bragantina apresentou banda L com amplitude positiva para todos os tratamentos preventivos e curativos e para CN. Maiores amplitudes foram observadas para os tratamentos curativos, exceto para Si-C, o qual apresentou um pequeno desvio negativo (Figura 4 C, D).

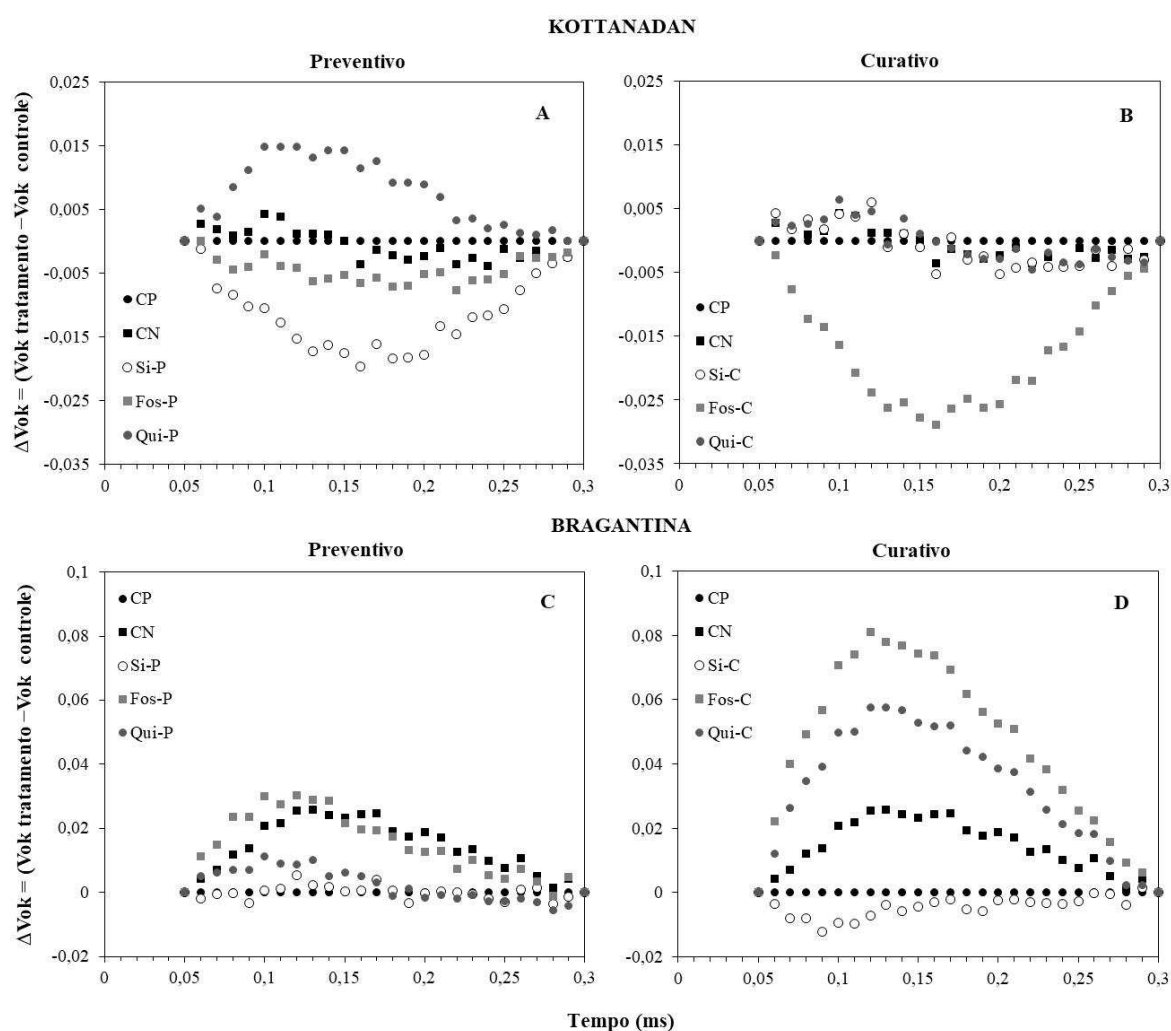


Figura 4: Diferença cinética de V_{OK} obtida após dupla normalização entre os pontos O-K, $\Delta V_{OK} = [V_{OK}(\text{tratamento}) - V_{OK}(\text{controle})]$, mostrando a banda L nas cultivares de pimenta-do-reino Kottanadan (A,B) e Bragantina (C,D), suplementadas com silício, fosfite e quitossana (Si, Fos e Qui), com aplicação preventiva e curativa. Todas as plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP); controle negativo (CN). Para a realização das análises, as folhas foram previamente adaptadas ao escuro, durante 30 minutos.

Banda K com amplitude negativa foi obtida para a cv. Kottanadan em todos os tratamentos, preventivamente e curativamente, e CN. Maiores amplitudes negativas foram observadas para os tratamentos Si-P e Fos-C (Figura 5 A,B). Contrariamente, para a cv. Bragantina, observou-se desvios positivos para todos os tratamentos, preventivos e curativos e CN, com maiores amplitudes observadas para Fos-C, Qui-C e CN (Figura 5 C,D).

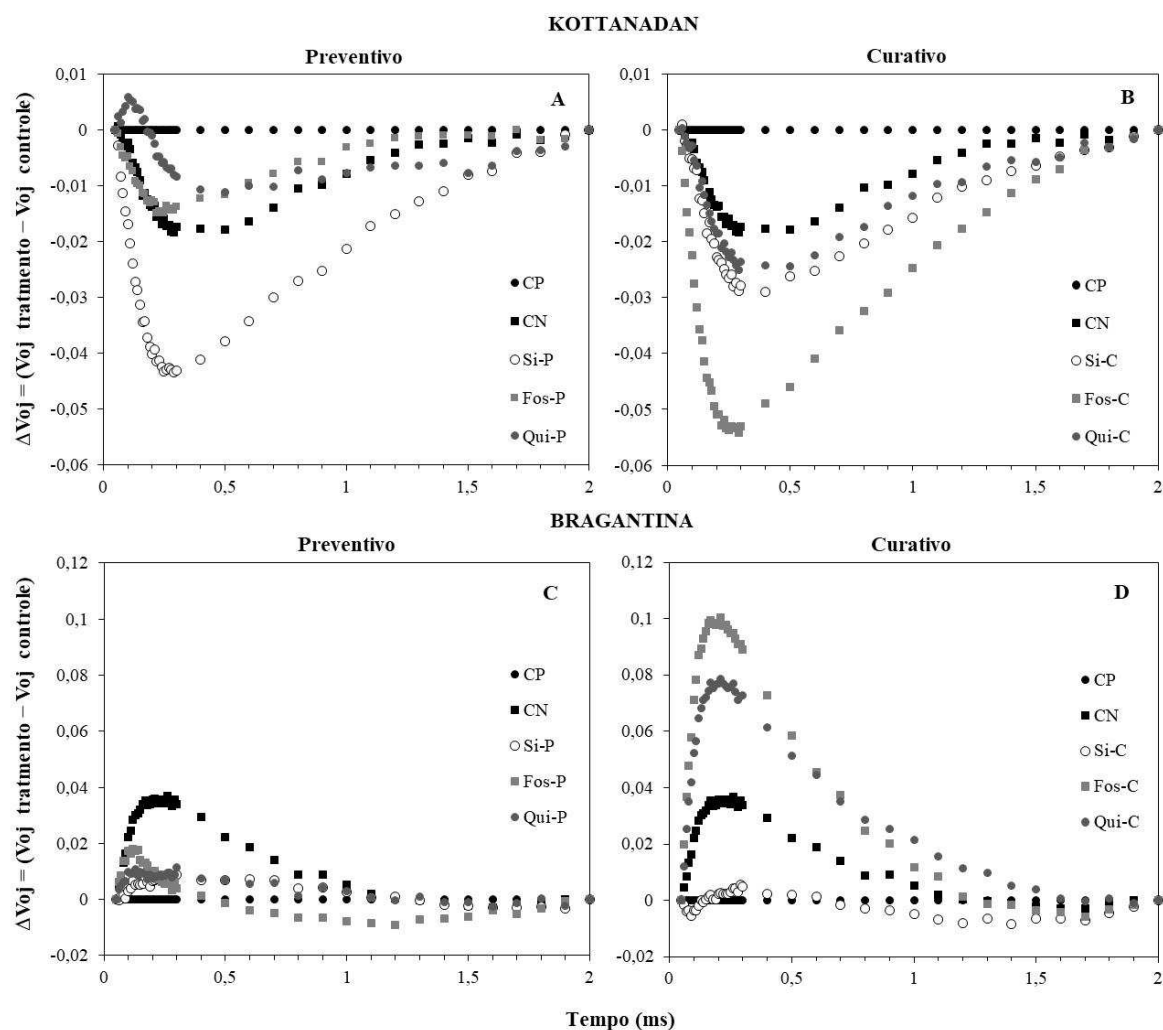


Figura 5: Diferença cinética de V_{OJ} obtida após dupla normalização entre os pontos O-J, $\Delta V_{OJ} = [V_{OJ} (\text{tratamento}) - V_{OJ} (\text{controle})]$, mostrando a banda K nas cultivares de pimenta-do-reino Kottanadan (A,B) e Bragantina (C,D), tratadas com silício, fosfito e quitosana (Si, Fos e Qui), com aplicação preventiva e curativa. Todas as plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP); controle negativo (CN). Para a realização das análises, as folhas foram previamente adaptadas ao escuro, durante 30 minutos.

Houve diferença significativa para os parâmetros do teste JIP F_v/F_m , ABS/RC e PI_{Total} ($p \leq 0,01$) e F_0 e DI_0/RC ($p \leq 0,05$) (Figura 6). Maiores valores de F_0 foram observados para a cv. Bragantina em todos os tratamentos e controles, exceto para Si-C. Todos os

tratamentos e os controles apresentaram valores de F_0 semelhantes para a cv. Kottanadan (Figura 6A).

Maiores valores da razão F_v/F_m foram observados para a cv. Kottanadan na maioria dos tratamentos (Si-P, Fos-P, Si-C, Fos-C e CP). Para os demais tratamentos e o CN, valores menores de F_v/F_m foram obtidos, similares àqueles descritos para a cv. Bragantina em todos os tratamentos (Figura 6B). Nenhuma variação em F_v/F_m foi observada entre os tratamentos para a cv. Bragantina.

Observou-se, ainda, aumentos significativos de ABS/RC e DI_0/RC para a cv. Bragantina em todos os tratamentos e controles, exceto para Si-C. Para a cv. Kottanadan, os valores de ABS/RC e DI_0/RC foram menores significativamente, comparativamente à cv. Bragantina, e similares entre os tratamentos e controles (Figura 6 C,D).

O índice de desempenho (PI_{Total}) foi maior para a cv. Kottanadan em comparação à cv. Bragantina nos tratamentos Si-P, Fos-P, Si-C, Fos-C e CP. Os valores dos demais tratamentos foram semelhantes aos da cv. Bragantina (Figura 6E).

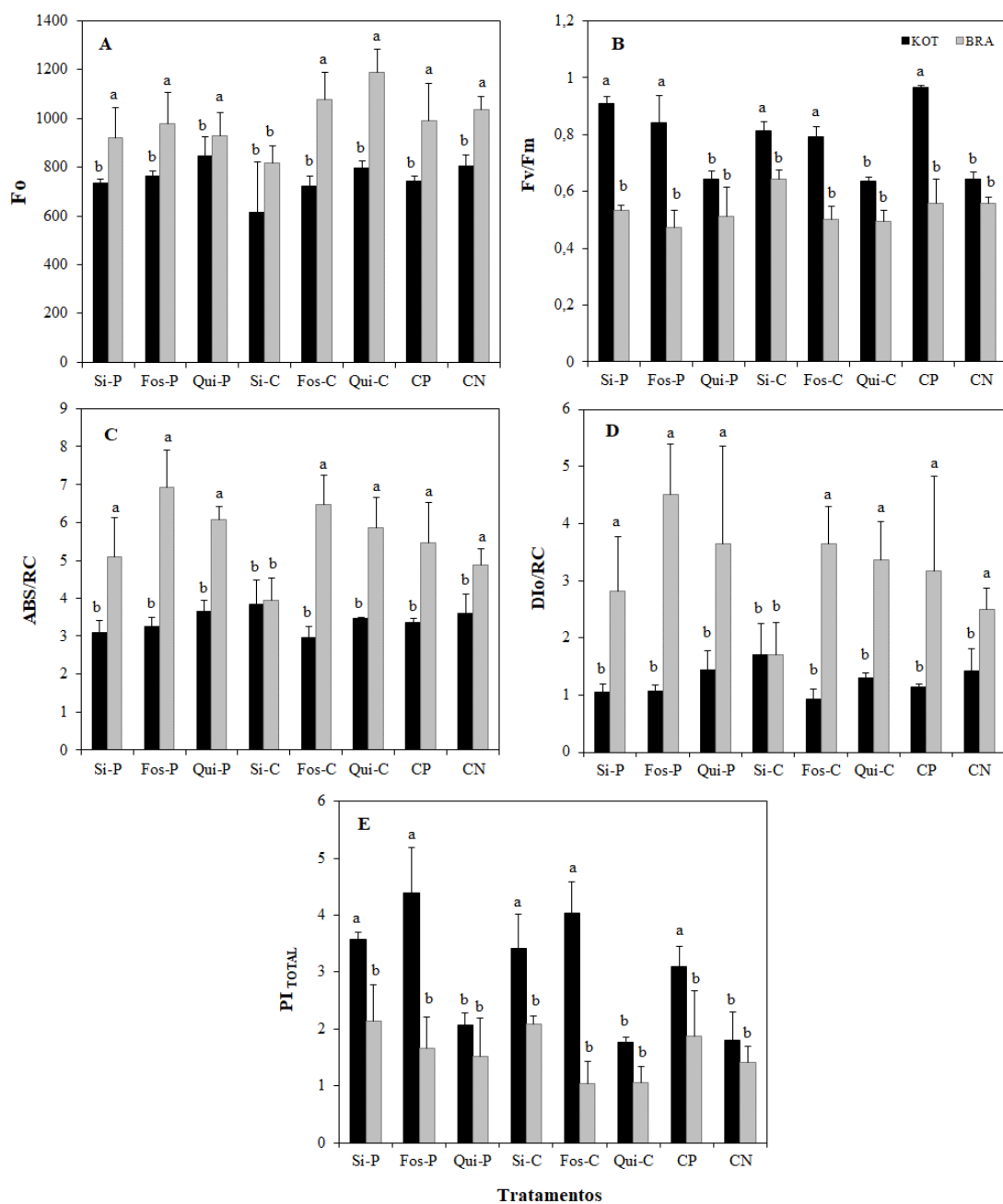


Figura 6: Parâmetros do teste JIP: fluorescência inicial (F_0) – A; eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m) - B; fluxos específicos por centro de reação (RC) em termos de absorção (ABS/RC) - C e dissipação (DI_0/RC) - D; índice de desempenho total (PI_{Total}) para as cultivares Kottanadan (KOT) e Bragantina (BRA), suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente (Si-P, Fos-P e Qui-P) e curativamente (Si-C, Fos-C e Qui-C). Todas as plantas foram inoculadas com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, exceto o controle positivo (CP); controle negativo (CN). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% e 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

3.3. Determinação dos parâmetros de trocas gasosas

Observou-se diferença significativa para os parâmetros C_i , E , g_s , A/C_i ($p \leq 0,01$) e A ($p \leq 0,05$). Por outro lado, a razão A/g_s não diferiu significativamente ($p \geq 0,05$) entre tratamentos e cultivar (Figura 7).

Para a cv. Bragantina, comparativamente à cv. Kottanadan, maiores valores de C_i foram observados para todos os tratamentos e controles, exceto para Qui-P, sem diferenças significativas para a cv. Kottanadan. De maneira geral, não houve diferença em C_i entre tratamentos e CN para ambas as cultivares (Figura 7A).

A taxa de transpiração (E) foi maior para todos os tratamentos e controles da cv. Kottanadan em comparação à cv. Bragantina, exceto para Fos-P (Figura 7B).

Para a cultivar Kottanadan, maiores valores de g_s foram observados para os tratamentos Si-P, Qui-P, Fos-C, Qui-C e CP, sem diferenças significativas entre as cultivares para os demais tratamentos (Figura 7C).

Maiores valores de A foram obtidos para a cv. Kottanadan em todos os tratamentos e controles quando comparada à cv. Bragantina, exceto para os tratamentos Si-C e Fos-C (Figura 7D). Não houve diferenças entre os tratamentos e cultivares nos valores de A/g_s .

De maneira geral, as reduções observadas nos valores de A foram acompanhadas por reduções significativas na eficiência de carboxilação da Rubisco (A/C_i). (Figura 7F).

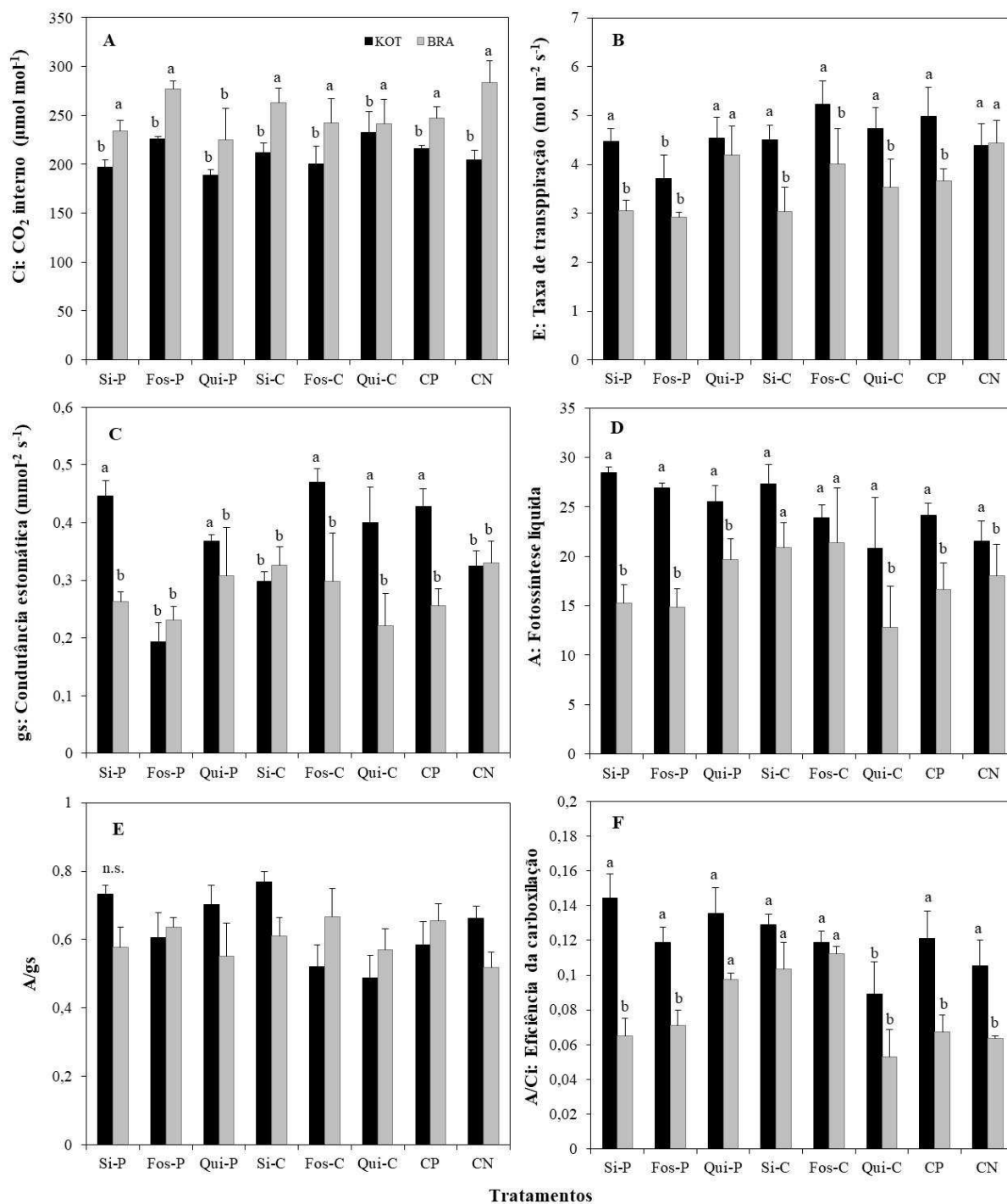


Figura 7: Concentração interna de CO₂ (Ci) – A; taxa de transpiração (E - mmol m⁻² s⁻¹) – B; condutância estomática (gs - mol m⁻² s⁻¹) – C; fotossíntese líquida (A - μmol m⁻² s⁻¹); eficiência intrínseca do uso da água (A/gs - μmol CO₂ mmol⁻¹ H₂O) - E e eficiência da carboxilação (A/Ci - μmol mmol⁻¹ ppm⁻¹) – F de duas cultivares de pimenta-do-reino (KOT – Kottanadan e BRA – Bragantina), suplementadas com silício, fosfito e quitosana, preventivamente e curativamente (Si-P, Fos-P, Qui-P, Si-C, Fos-C e Qui-C), 150 DAI com *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. Controle positivo (CP): sem tratamento e sem fungo; controle negativo (CN): sem tratamento e com fungo. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 1% e 5% de probabilidade. As barras representam o erro padrão da média.

4. DISCUSSÃO

4.1. Determinação do teor relativo de clorofila

O teor dos pigmentos fotossintéticos também foi alterado em resposta à doença, com menores valores observados para a cv. Bragantina (Figura 2), como observado pelas correlações negativas entre os teores de clorofila e a severidade da doença (clorofila *a*: $r = -0,7568$; $p = 0,0742$; clorofila *b*: $r = -0,7144$; $p = 0,1926$ e clorofila total: $r = -0,6664$; $p = 0,478$). De acordo com Tausz et al. (2001), valores reduzidos de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total podem ser atribuídos ao efeito fotodestrutivo causado pelo estresse, o qual é responsável pela elevação das taxas de degradação e redução das taxas de biossíntese desses pigmentos.

A clorofila *a* é o pigmento fotossintético mais abundante na natureza e está presente em todos os organismos que realizam a fotossíntese oxigênica (STREIT et al., 2005). Sua principal função é atuar como doador de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese, ao passo que os demais pigmentos atuam como pigmentos acessórios no sistema antena, auxiliando na absorção de luz e transferência da energia de excitação para as clorofilas *a* que compõem os centros de reação dos fotossistemas I e II (TAIZ e ZEIGER, 2013). O tipo de pigmento fotossintético e sua abundância variam de acordo com as espécies (STREIT et al., 2005). No caso das plantas, os pigmentos especializados na absorção da luz são as clorofilas *a* e *b* e os carotenoides (LAMBERS et al., 2008; GOVINDJEE et al., 2010).

Outros autores estudaram o comportamento fotossintético de plantas inoculadas com patógenos. Kumudini et al. (2008) observaram que em folhas de soja infectadas por *Phakopsora pachyrhizi*, as perdas na atividade fotossintética foram principalmente associadas à diminuição das concentrações de clorofila e à redução da absorção de luz nas folhas. Abo-Foul et al. (1996), verificaram que as folhas de plantas de pepino infectadas por *Sphaerotheca fuliginea* apresentaram redução na fotossíntese líquida (A), estando este comportamento associado à diminuição da concentração de clorofilas e à perda de tilacóides no estroma do cloroplasto. Nossos resultados corroboram aqueles obtidos por Abo-Foul et al. (1996) e são embasados pelas correlações positivas entre A e clorofila *a* ($r = 0,8926$; $p = 0,0005$), A e clorofila *b* ($r = 0,8594$; $p = 0,0027$) e A e clorofila total ($r = 0,8125$; $p = 0,0155$).

Aucique Perez et al. (2014), estudando as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* em plantas de trigo infectadas com *Pyricularia oryzae*, observaram diminuição nos valores de F_v/F_m e na fotossíntese e concluíram que essas deficiências contribuíram para o progresso da doença, juntamente com as reduções nos valores de clorofila total e, principalmente, nos valores de clorofila *a*. De acordo com MURCHIE e HORTON (1997), sob condições foto-oxidativas, a clorofila *a* é mais propensa a oxidação do que a clorofila *b*.

4.2. Fluorescência da Clorofila *a*

Para nosso conhecimento, não há trabalhos prévios sobre a aplicação do transiente OJIP para avaliar as mudanças na eficiência fotossintética de plantas infectadas por fungos patogênicos. Neste estudo, o comportamento polifásico OJIP observado para ambas as cultivares indica que as amostras permaneceram fotossinteticamente ativas após a infecção pelo fusarium. Por conseguinte, a relativa estabilidade nas curvas OJIP observada para a cv. Kottanadan indica maior capacidade de equilibrar o transporte de elétrons sob condições de estresse biótico (Figura 2A). Por conseguinte, a presença de curvas com as fases OJIP suprimidas na cv. Bragantina (Qui-P, Qui-C e Fos-P) podem evidenciar bloqueios parciais ou totais no fluxo de energia na cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese (MEHTA et al., 2010). A variação na amplitude das curvas tem sido descrita para plantas submetidas a vários tipos de estresse abiótico e indicam o grau de heterogeneidade das amostras e a susceptibilidade da espécie/genótipo ao estresse (GOMES et al., 2012). Neste estudo, maior heterogeneidade dos transientes OJIP foi observada para a cv. Bragantina (Figura 2B).

De acordo com SCHANSKER et al. (2005) e YUSUF et al. (2010), as fases da curva OJIP refletem diferentes processos na redução da cadeia de transporte de elétrons (CTE). A fase O-J está relacionada a redução fotoquímica de Q_A nos CRs do FSII. A fase J-I envolve os eventos de redução/oxidação do *pool* de plastoquinonas enquanto a fase I-P refere-se aos processos de redução dos aceptores finais de elétrons do FSI como a ferredoxina (Fd) e NADP.

Os desvios de amplitude negativa das bandas L e K para a cv. Kottanadan indicam a manutenção de maior conectividade energética entre as subunidades do FSII e estabilidade do CEO, respectivamente (STRASSER, 1997; STRASSER e STIRBET, 1998) (Figura 4 A,B e Figura 5 A,B). É válido destacar que, para a cv Kottanadan, dos produtos

alternativos testados neste estudo, todos, com exceção da Qui-P, mostraram-se eficientes em manter ou melhorar a conectividade energética e estabilidade do CEO. Por outro lado, a suplementação curativa com Fos resultou no aumento da amplitude negativadas bandas L e K. . Por outro lado, os desvios positivos das bandas L e K observados para a cv. Bragantina, independentemente do modo de aplicação dos produtos, confirmam a maior susceptibilidade dessa cultivar à fusariose, como já estabelecido, com declínios acentuados na conectividade energética (banda L) e na estabilidade do CEO (banda K) principalmente nos tratamentos Fos-C e Qui-C (Figura 4 C,D e Figura 5 C,D).

De acordo com Oukarroum et al. (2009), as bandas L e K são eficientes na identificação de distúrbios fisiológicos, mesmo antes da manifestação visível dos danos. Yusuf et al. (2010) relatam que quanto maiores forem os valores positivos da banda L, como observados no presente estudo para a cv. Bragantina (Figura 4 C,D), menor é a conectividade energética e o agrupamento entre as subunidades e, quanto maiores forem as amplitudes positivas da banda K (Figura 5 C,D), maior é o desequilíbrio energético entre os lados doador e acceptor do FSII, onde o fluxo de elétrons do CEO para P680 no lado doador do FSII é mais lento que o fluxo do FSII para Q_A no lado acceptor (STRASSER, 1997; LAZÁR, 2006; JIANG et al., 2008; YUSUF et al., 2010).

Christen et al. (2007), caracterizaram as respostas da videira (*Vitis vinífera* cv. Cabernet sauvignon e Merlot) à doença esca ou doença do tronco da videira, causada pelos patógenos vasculares *Eutypa lata*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* e *Fomitiporia mediterranea* por meio da fluorescência da clorofila *a*. Os autores observaram presença de banda K positiva para a cv. C. sauvignon, evidenciada pela interrupção na absorção de nutrientes, uma vez que os agentes patogênicos colonizam os vasos xilemáticos. Segundo os autores, a presença de reações de defesa da própria planta (tiloses) ou produção de enzimas lignolíticas e celulolíticas e toxinas do patógeno, consequentemente impedem o transporte de água e nutrientes na planta. De acordo com Leslie e Summerell (2006), *Fusarium solani* produz enzimas e toxinas capazes de impedir a função dos vasos xilemáticos de absorver água e nutrientes. Assim, podemos inferir que a presença da banda K para a cv. Bragantina pode ter sido evidenciada não somente pela impossibilidade de absorção de nutrientes, mas também por mecanismos do próprio patógeno.

Os maiores valores de F_0 observados para a cv. Bragantina (Figura 6A) podem ser atribuídos a um aumento no número de centros de reação (CRs) inativos, baixa transferência ou bloqueio de energia entre os sistemas antena até os CRs do FSII devido à

dissociação entre o complexo do sistema antena e o núcleo do FSII ou a inativação do complexo de evolução do oxigênio (CEO) (LAZÁR, 1999; JIANG et al., 2008; KALAJI et al. 2011; GHOTBI-RAVANDI et al., 2014). A similaridade dos valores de F_0 entre tratamentos e CN indica a ineficiência dos produtos na supressividade da doença. Por outro lado, a redução de F_0 após a aplicação do Si-C evidencia a eficiência desse produto sobre a supressividade de *F. solani* nesta cultivar. Por conseguinte, o aumento de F_0 resultante no aumento do número de CRs inativos para a cv. Bragantina é embasado pelos maiores valores de ABS/RC e DI_0/RC obtidos para esta cultivar (Figura 6 C,D) bem como pela inativação do CEO, confirmada por meio da análise dos desvios positivos da banda K (Figura 5 C,D). Analogamente ao discutido para F_0 , a invariabilidade de ABS/RC e DI_0/RC entre tratamentos e CN para a cv. Bragantina, confirma a ineficiência dos produtos na supressão da doença, bem como a eficiência do uso do Si-C.

Os menores valores de F_v/F_m observados em todos os tratamentos e nos controles positivo e negativo para a cv. Bragantina também foram influenciados por F_0 . De acordo com Osmond (1994), quando danos às unidades do FSII são parciais, e possíveis de recuperação por meio do retorno dos valores de F_0 e F_v/F_m às condições anteriores ao estresse, ocorre o fenômeno da fotoinibição dinâmica. Entretanto, valores maiores para F_0 e menores para F_v/F_m foram observados ao longo dos 180 DAI (dados não mostrados), caracterizando um estresse severo ou fotoinibição crônica para a cv. Bragantina. Resultados similares foram descritos por Chen e Cheng (2010) estudando a fotoinibição da fotossíntese na maçã 'Honeycrisp' (*Malus domestica* Borkh. cv. Gala) com clorose. Os autores encontraram maiores valores para F_0 , menores valores para F_v/F_m , banda L e banda K com desvios positivos e concluíram que a fotoinibição ocorreu tanto no lado doador (isto é, na CEO) quanto no lado acceptor do FSII em folhas cloróticas. O lado acceptor é danificado mais severamente do que o lado doador, o que possivelmente é uma consequência da redução FSII devido à desaceleração do ciclo de Calvin.

Os danos ocorridos em F_v/F_m para a cv. Bragantina, levaram a alterações nos fluxos de energia de absorção (ABS/RC) e de dissipação por CR (DI_0/RC) (Figura 6 C,D). De acordo com Strasser e Strasser (1995) e Mehta et al. (2010), ABS/RC é influenciado por variações na razão de CRs ativos/inativos e essa variação pode ser por um aumento efetivo no tamanho da antena que fornece energia de excitação para os CRs ou por uma diminuição da atividade dos CRs redutores de Q_A (STRASSER e STIRBET, 1998; YUSUF et al. 2010). Em nossos resultados, como já salientado, os maiores valores de ABS/RC foram embasados pelo comportamento da banda L (Figura 4), com menor

conectividade entre as unidades do FSII (STRASSER et al. 2000, 2004), indicando, para a cv. Bragantina, diminuição na atividade dos CRs em todos os tratamentos, com exceção para Si-C (Figura 6C).

O índice de desempenho PI_{Total} está diretamente relacionado ao resultado final da atividade da planta, como crescimento ou sobrevivência sob condições de estresse (STRASSER et al, 2007; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER , 2008; ZUBEK et al., 2009; YUSUF et al., 2010). Valores menores de PI_{Total} observados para a cv. Bragantina, em todos os tratamentos, expressam perda na capacidade de conservação de energia em resposta à ineficiência dos produtos no controle fúngico, como discutido acima (Figura 6A). Esses resultados são suportados pela correlação negativa entre PI_{Total} e severidade, evidenciando a ocorrência de maior a severidade da doença na condição de menor desempenho na conservação de energia.

Os valores apresentados para cv. Kottanadan referentes à F_0 , Fv/Fm , ABS/RC , DI_0/RC e PI_{Total} demonstram, no geral, melhor comportamento do aparato fotoquímico dessa cultivar quando submetida à inoculação fúngica, confirmando os resultados de resistência descritos para esta cultivar (Capítulo 3). Esses dados são sustentados pela correlações positiva entre F_0 e severidade ($r = 0,6518$; $p = 0,6131$), negativa entre Fv/Fm e severidade ($r = -0,7794$; $p = 0,0413$), positiva entre ABS/RC e severidade ($r = 0,6138$; $p = 1.1098$), positiva entre DI_0/RC e severidade ($r = 0,6476$; $p = 0,6569$) e negativa entre PI_{Total} e severidade ($r = -0,6946$; $p = 0,2859$). Nota-se, porém, que o tratamento com quitosana, tanto preventivo como curativo, resultou em valores menores para Fv/Fm e PI_{Total} , semelhantes aos observados para o controle negativo. Assim, podemos inferir que a quitosana não contribuiu efetivamente para o controle do patógeno, uma vez que reduções na atividade fotoquímica ocorreram.

De acordo com Christen et al. (2007), análises do teste JIP fornecem vários parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, os quais podem informar sobre desempenho do aparato fotossintético e, conseqüentemente, sobre a vitalidade das videiras. Com essas ferramentas foi possível identificar cultivares tolerantes (Cabernet sauvignon) e suscetíveis (Merlot) à doença esca.

4.3. Determinação dos parâmetros de trocas gasosas

No geral, independente da suplementação e do modo de aplicação dos produtos, *F. solani* exerceu efeito deletério na fisiologia da cv. Bragantina aos 150 DAI,

principalmente, pela redução de A e g_s (Figura 7). A redução dos valores de A e g_s (Figura 7 C,D), associada à redução de F_v/F_m (Figura 6B) e aos maiores valores de C_i (Figura 7A), sugerem que a fotossíntese da cv. Bragantina foi limitada por fatores não-estomáticos. Esses resultados são sustentados pela correlação positiva entre A e g_s ($r = 0,5089$; $p = 4,228$), correlação negativa entre A e C_i ($r = -0,6771$; $p = 0,396$), correlação negativa entre C_i e F_v/F_m ($r = -0,4593$; $p = 7,0784$) e a correlação positiva entre a severidade da doença e C_i ($r = 0,6731$; $p = 0,4248$). De acordo com Debona et al. (2014), menores valores em A podem ser interpretados como um desequilíbrio na capacidade bioquímica para a fixação de CO_2 . Esta condição de redução na assimilação de carbono nas plantas (A) associada a baixos valores da eficiência fotoquímica (F_v/F_m) e altos fluxos de energia de dissipação (DI_0/RC) reforçam a hipótese de ocorrência de uma inibição bioquímica da fotossíntese causada pelo fusarium. Como consequência, maiores perdas de energia na forma de calor ocorrem.

Yun et al. (2000), estudando o patossistema *Oryza sativa* x *Magnaporthe grisea* observaram diminuições na atividade de Rubisco e na capacidade de regeneração de ribulose-1,5-bifosfato (RuBP) devido à redução nos valores de A e A/C_i nas plantas infectadas. Essa capacidade de regeneração da RuBP pode ser limitada devido à distúrbios na cadeia de transporte de elétrons, explicado, neste estudo, pelos menores valores de F_v/F_m , resultando em menor fornecimento de NADPH e ATP. De acordo com Baker et al. (1997), perda ou inativação de enzimas envolvidas no ciclo de Calvin, além da Rubisco, contribuem para a redução da capacidade de regeneração da RuBP. Resultados semelhantes foram encontrados em outros patossistemas (*Eucalyptus urophylla* x *Puccinia psidii*; *Oriza sativa* x *Bipolaris oryzae*; *Eucalyptus globulus* x *Mycosphaerella*; *Sorghum* x *Colletotrichum sublineolum*) e, geralmente, foram interpretados como uma indicação de limitações bioquímicas da fotossíntese (ALVES et al., 2011; DALLAGNOL et al., 2011; PINKARD e MOHAMMED, 2006; RESENDE et al., 2012). No presente estudo, o tratamento com Si-C resultou em aumentos significativos em A e A/C_i para a cv. Bragantina, comparativamente ao CN. Embora esses resultados não possam ser comparados àqueles obtidos para a fluorescência da clorofila a (registrados aos 180 DAI), houve uma tendência para a melhoria da atividade fotossintética nas plantas inoculadas e suplementadas com Si, mesmo não se possa afirmar a ocorrência de uma resposta padrão para os produtos utilizados.

Luque et al. (1999) avaliaram alguns parâmetros fotossintéticos em plantas de *Quercus suber* L. (sobreiro ou cortiça) inoculadas com três fungos patogênicos,

Botryosphaeria stevensii, *Hypoxylon mediterraneum* e *Phytophthora cinnamomi*. As plantas inoculadas apresentaram menores valores de g_s e F_v/F_m . De acordo com os autores, menores valores de g_s e F_v/F_m indicam desordens metabólicas da planta, pela redução da capacidade hídrica e energética disponíveis para o crescimento e defesa das plantas infectadas. Para a cv. Bragantina, a ausência de diferenças significativas em g_s e F_v/F_m entre tratamentos e CN, reforça a menor a supressividade da doença, confirmando a maior susceptibilidade dessa cultivar à fusariose.

Linaldeddu et al. (2009), estudando duas espécies de arbóreas nativas do Mediterrâneo, *Quercus suber* L.(cortiça) e *Quercus ilex* L. (carvalho), observaram que os agentes patogênicos *Apiognomonina quercina*, *Biscogniauxia mediterranea*, *Botryosphaeria corticola* e *Pleurophoma cava* causaram efeitos negativos nas trocas gasosas em mudas de cortiça, independentemente do tamanho da lesão do caule, sugerindo a produção de toxinas fúngicas. Esta hipótese baseia-se no fato de que o tamanho do dano visual causado ao caule por *B. mediterranea* e *P. cava* era pequeno demais para justificar a menores valores de A e g_s . Por outro lado, em mudas de carvalho, apenas *B. corticola* causou variações significativas nas trocas gasosas em relação às mudas controle. Os outros fungos induziram ligeiras variações fisiológicas, embora os tamanhos das lesões nas hastes fossem semelhantes nos dois hospedeiros da planta. Este aspecto sugere que mecanismos de defesa em plantas de carvalho foram ativados para combater os efeitos fisiológicos das infecções fúngicas. A habilidade do carvalho para limitar os processos de infecção de alguns patógenos fúngicos foi observada por EL Omari et al. (2001), em mudas de 3 anos, infectadas artificialmente com *Phomopsis* spp. No segundo ano após a inoculação, os cancos causados por esses agentes patogênicos foram completamente curados e não foram detectados distúrbios de trocas gasosas. Apesar disso, Linaldeddu et al. (2009) concluíram que causas específicas para as respostas fisiológicas diferenciais das duas espécies de carvalho aos ataques de fungos continuam incertas. No presente estudo, os menores valores de E observados para a cv Bragantina podem ser associados aos resultados observados para g_s , sendo sustentados pela correlação positiva e significativa entre E e g_s ($r = 0,7141$; $p = 0,1939$). Outros autores observaram concomitante reduções em E e g_s em plantas infectadas por patógenos (DUNIWAY e DURBIN, 1971; McGRATH e PENNYPACKER, 1990; GODOY et al., 2001).

5. CONCLUSÕES

Independentemente da severidade da doença, plantas inoculadas com *F. solani* f. sp. *piperis* permaneceram fotossinteticamente ativas após 180 dias;

Danos ao complexo de evolução do oxigênio (CEO) e na conectividade energética entre as subunidades do fotossistema II (FSII) ocorreram na cv. Bragantina infectada pelo fungo;

A fotossíntese e pigmentos fotossintéticos foram significativamente reduzidos durante o processo de infecção por *F. solani* para a cv. Bragantina, mostrando que essa cultivar não apresenta comportamento favorável à supressividade da doença;

A cv. Kottanadan foi mais resistente ao fungo, considerando os maiores valores do teor relativo de clorofila, dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e de trocas gasosas.

A redução de F_0 , ABS/RC e DI_0/RC após a aplicação do Si-C evidenciou a eficiência desse produto sobre a supressividade de *F. solani* na cv. Bragantina.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABO-FOUL, A.; RASKIN, V.I.; SZTEJNBERG, A.; MARDER, J.B. Disruption of chlorophyll organization and function in powdery mildew-diseased cucumber leaves and its control by the hyperparasite *Ampelomyces quisqualis*. **Phytopathology**, v. 86, p. 195–199, 1996.
- ACCIOLY, A.M.A.; CONCEIÇÃO, E.G.J.; ANGELA, P.; ALCOFORADO, U.G.; RODRIGUEZ, M.A.D. Distribuição de Silício em bananeiras inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Anais do Fertilbio 2012**, Maceió-Alagoas, 2012.
- AJIGBOYE, O.O.; BOUSQUET, L.; MURCHIE, E.H.; RAY, R.V. Chlorophyll fluorescence parameters allow the rapid detection and differentiation of plant responses in three different wheat pathosystems. **Functional Plant Biology**, v. 43, n. 4, p. 356–369, 2016.
- ALBUQUERQUE, F.C.; DUARTE, M.L.R. Comportamento de cultivares de pimenta-do-reino em áreas de ocorrência de fusariose no Estado do Pará. Belém: **EMBRAPA-CPATU**, 1991. 40p.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. 2^a edição. Viçosa. Ed. UFV, 2016. 516p.
- ALVES, A.A.; GUIMARÃES, L.M.S.; CHAVES, A.R.M.; DaMatta, F.M.; ALFENAS, A.C. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence of *Eucalyptus urophylla* in response to *Puccinia psidii* infection. **Acta Physiology Plant**, v. 33, p. 1831–1839, 2011.
- AUCIQUE-PEREZ, C.E.; RODRIGUES, F.A.; MOREIRA, W.R.; DaMATTa, F.M. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence in wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, v. 104, p. 143–149, 2014.
- BAKER, N.R.; NOGUÉS, S.; ALLEN, D.J. Photosynthesis and photo- inhibition. *In*: LUMSDEN, P.J. (Ed.). **Plants and UV-B: Response to Environmental Change**. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p. 95–111, 1997.
- BAURIEGEL, E.; GIEBEL, A.; HERPPICH, W.B. Rapid Fusarium head blight detection on winter wheat ears using chlorophyll fluorescence imaging. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 83, n. 2, p. 196–203, 2010.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ- LÓPEZ, M.; AIT BARKA, E.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, p. 108–118, 2006.
- BENCHIMOL, R.L.; SUTTON, J.C.; DIAS-FILHO, M.B. Potencialidade da casca de caranguejo na redução da incidência de fusariose e na promoção do crescimento de mudas de pimenteira-do-reino. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 180–184, 2006.

- BERGER, S.; SINHA, A.K.; ROITSCH, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 4019–4026, 2007.
- CHEN, L.S.; CHENG, L. The acceptor side of photosystem ii is damaged more severely than the donor side of photosystem ii in “Honeycrisp” apple leaves with zonal chlorosis. **Acta Physiology Plant**, v. 32, p. 253–61, 2010.
- CHRISTEN, D.; SCHÖNMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R.J.; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 504-514, 2007.
- CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.
- DALLAGNOL, L.J.; RODRIGUES, F.A.; MARTINS, S.C.V.; CAVATTE, P.C.; DaMATTa, F.M. Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. **Australian Plant Pathology**, v. 40, p. 360-365, 2011.
- DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Nutrition. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Eds.). **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Paul MN. APS Press, p. 233-246, 2007.
- DUARTE, M.L.R.; ALBUQUERQUE, F.C.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Doenças da Pimenteira-do-Reino (*Piper nigrum*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. et al. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**. 4ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, cap. 58, p. 507-516, 2005.
- DUNIWAY, J.M.; DURBIN, R.D. Some effects of *Uromyces phaseoli* on the transpiration rate and stomatal response of bean leaves. **Phytopathology**, v. 61, p. 114-119, 1971.
- EL OMARI, B.; FLECK, I.; ARANDA, X.; MORET, A; NADAL, M. Effect of fungal infection on leaf gas-exchange and chlorophyll fluorescence in *Quercus ilex*. **Annals of Forest Science**, v. 58, p. 165–173, 2001.
- EMBRAPA - EMBRAPA INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA. **Manual Segurança e Qualidade para a Cultura da Pimenta-do-Reino**. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 65 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA. 2004.
- EPSTEIN, L.; KWON, Y.H.; ALMOND, D.E.; SCHACHED, L.M.; JONES, M.J. Genetic and biochemical characterization of *Nectria haematococca* strains with adhesive and adhesion-reduced macroconidia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 524-530, 1994.
- FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA. **Manual do medidor eletrônico de teor clorofila** (ClorofiLOG/CFL 1030). Porto Alegre, 2008. 33p. Disponível em: http://www.falker.com.br/produto_download.php?id=4.

- FERNANDES, A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R. Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 564-570, 2002.
- GHINI, R. Solarização: histórico, resultados recentes e perspectivas. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p. 139-140, 2004.
- GHOTBI-RAVANDI, A.A.; SHAHBAZI, M.; SHARIATI, M.; MULO, P. Effects of Mild and Severe Drought Stress on Photosynthetic Efficiency in Tolerant and Susceptible Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 200, p. 403-415, 2014.
- GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Alterações na fotossíntese e na transpiração de folhas de milho infetadas por *Phaeosphaeria maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 209-215, 2001.
- GOVINDJEE, K.J.F.; MESSINGER J.; WHITMARSH J. Photosystem II. **Encyclopedia of Life Sciences**. p.1-15, 2010.
- HADWIGER, L.A.; WAGONER, W. Electrophoretic patterns of pea and *Fusarium solani* proteins synthesized in vitro or in vivo which characterize the compatible and incompatible interactions. **Physiological Plant Pathology**, v. 23, p. 153-162, 1983.
- JIANG, H.X.; CHEN, L.S.; ZHENG, J.G. *et al.* Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in citrus leaves assessed by the chlorophyll *a* fluorescence transient. **Tree Physiology**, v. 28, p. 1863–1871, 2008.
- JONES, M.J.; EPSTEIN, L. Adhesion of *Nectria haematococca* macroconidia. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 35, p. 453-461, 1989.
- JONES, M.J.; EPSTEIN, L. Adhesion of macroconidia to the plant surface and virulence of *Nectria haematococca*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3772-3778, 1990.
- KALAJI, H.M.; GOVINDJEE; BOSA, K.; KOSCIELNIAK, J.; ZUK-GOŁASZEWSKAE, K. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces. **Environmental and Experimental Botany**, v. 73, p. 64-72, 2011.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 3ª edição. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p.774, 1997.
- KUMUDINI, S.; PRIOR, E.; OMIELAN, J.; TOLLENAAR, M. Impact of *Phakopsora pachyrhizi* infection on soybean leaf photosynthesis and radiation absorption. **Crop Science**, v. 48, p. 2343–2350, 2008.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, F.S., PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. 2ª edição. Springer, 604 p., 2008.
- LAZÁR, D. Chlorophyll *a* fluorescence induction. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1412, n. 1, p. 1-28, 1999.

- LIMA, J.S.S.; OLIVEIRA, R.B.; ROCHA, W.; OLIVEIRA, P.C.; QUARTEZANI, W.Z. Análise espacial de atributos químicos do solo e da produção da cultura pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **IDESIA**, Chile, v. 28, n. 2, p. 31-39, 2010.
- LINALDEDDU, B.T.; SIRCA, C.; SPANO, D. *et al.* Physiological responses of cork oak and holm oak to infection by fungal pathogens involved in oak decline. **Forest Pathology**, v. 39, p. 232–8, 2009.
- LOVATT, C.J.; MIKKELSEN, R.L. Phosphite fertilizers: what are they? can you use them? what can they do? **Better Crops**, Norcross, v. 90, n. 4, p. 11-13, 2006.
- LUQUE, J.; COHEN, M.; SAVÉ, R. *et al.* Effects of three fungal pathogens on water relations, chlorophyll fluorescence and growth of *Quercus suber* L. **Annals of Forest Science**, v. 56, p. 19–26, 1999.
- MANES, F.; VITALE, M.; DONATO, E.; GIANNINI, M.; PUPPI, G. Different ability of three Mediterranean oak species to tolerate progressive water stress. **Photosynthetica**, v. 44, p. 387–393, 2006.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.
- MAZARO, S.M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S.S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 1824-1829, 2008.
- McGRATH, M.T.; PENNYPACKER, S.P. Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. **Phytopathology**, v. 80, p. 677-686, 1990.
- MEHTA, P.; ALLAKHVERDIEV, S.I.; JAJOO, A. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). **Photosynthesis Research**, v. 105, p. 249–255, 2010.
- MURCHIE, E.H.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, capacity and habitat preference. **Plant, Cell and Environment**, v. 20, p. 438-448. 1997.
- MURCHIE, E.H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **Journal Experimental Botany**, v. 64, p. 3983- 3998, 2013.
- NELSON, S.C.; CANNON-EGGER, K.T. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Black Pepper (*Piper Nigrum*). 2ª edição. In: ELEVITCH, C.R. (Ed.). **Permanent Agriculture Resources** (PAR), Holualoa, Hawai, 2011.
- NICOLE, L.R. Levantamento de solos da Fazenda Experimental do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus, ES. **Trabalho de Conclusão de Curso - TCC**, Centro universitário Norte do espírito Santo – CEUNES, 2014. 37p.
- NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.P.; CIA, P.;

- PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds). **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**. FEALQ, Piracicaba, p. 139-153, 2005.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. *In*: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, cap. 22, p. 417-454, 1995.
- PETIT, A.N.; VAILLANT, N.; BOULAY, M.; CLÉMENT, C.; FONTAINE, F. Alteration of photosynthesis in grapevines affected by esca. **Phytopathology**, v. 96, p. 1060-1066, 2006.
- PINKARD, E.A.; MOHAMMED, C.L. Photosynthesis of *Eucalyptus globulus* with *Mycosphaerella* leaf disease. **New Phytologist**, v. 170, p. 119-127, 2006.
- PINTO, Z.V.; BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Efeito de casca de camarão, hidrolisado de peixe e quitosana no controle da murcha de *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* em crisântemo. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 16-23, 2010.
- PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. **Dissertação de Mestrado em Ciências Exatas**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, 2006. 110p.
- PREZOTTI, L.C.; GOMES, J.A.; DADALTO, G.G.; OLIVEIRA, J.D. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo**. 5ª edição. Vitória: SEEA/Incaper/Cedagro, 305. 2007.
- RESENDE, R.S.; RODRIGUES, F.A.; CAVATTE, P.C.; MARTINS, S.C.V.; MOREIRA, W.R.; DaMATTA, F.M. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected with *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**, v. 102, p. 892-898, 2012.
- ROLFE, S.A.; SCHOLLES, J.D. Chlorophyll fluorescence imaging of plant-pathogen interactions. **Protoplasma**, v. 247, p. 163-175, 2010.
- SAMAC, D.A.; LEONG, S.A. Disease development in Cucurbita maxima squash infected with Fusarium solani f. sp. cucurbitae. **Canadian Journal of Botany**, v. 67, p. 3486-3489, 1989.
- SANTIAGO, A.R.; BARROSO, D.G.; MENDONÇA, A.V.R.; CAMPOSTRINI, E.; CARNEIRO, J.G.A.; DETMANN, E. Monocultivo de eucalipto e consórcio com sesbânia: crescimento inicial em cavas de extração de argila. **Revista Árvore**, v. 33, n. 1, p. 67-79, 2009
- SCHANSKER, G.; TÓTH, S.Z.; STRASSER, R.J. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl *a* fluorescence rise OJIP. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1706, p. 250-261, 2005.
- SHTIENBERG, D. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: a comparative study. **Phytopathology**, v. 82, p. 760-765, 1992.

- SILVA, S.O.; NETO, A.P.D.; SILVA, M.B. Pimenta-do-reino: importância da defesa fitossanitária para a sustentabilidade da atividade na região norte do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 1, n. 1, p. 88-92, 2011.
- STRASSER, J.B.; STRASSER, R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-Test. *In*: MATHIS, P. (Ed.) **Photosynthesis: from Light to the Biosphere**, v. 4, p. 909-912, 1995.
- STRASSER, R.J.; MICHAEL, M.T.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient. *In*: GOVINDJE, G.P. (Ed.). **Advances in Photosynthesis and Respiration Chlorophyll Fluorescence a Signature of Photosynthesis**. Kluwer Academic Publishers. p. 321-362, 2004.
- STRASSER, R.J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *In*: YUNUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P. (Eds.). **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation**, Taylor & Francis, London, p. 445-483, 2000.
- STRASSER, R.J.; STIRBET, A.D. Heterogeneity of photosystem II probed by the numerically simulated chlorophyll *a* fluorescence rise (O–J–I–P). **Mathematics and Computers in Simulation Journal**, v. 48, p. 3–9, 1998.
- STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; DANGRE, D.; RAI, M. Biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of Mycorrhization with *Piriformospora indica*. *In*: VARMA, A; OELMÜLER, R. (Eds.). **Soil Biology**, Advanced Techniques in Soil Microbiology, Berlin Heidelberg, p. 319–341, 2007.
- STREIT, N.M.; CANTERLE, L.P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. The Chlorophylls. **Ciência Rural**, v. 35, p. 748-755, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. São Paulo, 2013.
- TAUSZ, M.; HIETZ, P.; BRIONES, O. The significance of carotenoids and tocopherols in photoprotection of seven epiphytic fern species of a Mexican cloud forest. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 775-783, 2001.
- TREMACOLDI, C.R. Principais Doenças Fúngicas da Pimenteira-do-Reino no Estado do Pará e Recomendações de Controle. **Embrapa Amazônia Oriental**, Belém-PA, p. 25, 2010.
- TRINDADE, D.R.; POLTRONIERI, L.S. Doenças da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BARGAMIN FILHO, A. *et al.* (Eds). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2, p. 579-593, 1997.
- TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R.J. In vivo assessment of plants' vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plants. *In*: VARMA, A. (Ed.). **Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics**. 3ª edição. Springer, Dordrecht, p. 679–703, 2008.

- VAZ, A.B. Caracterização biológica e filogenética do agente etiológico da Fusariose da Pimenta-do-Reino no Brasil. **Tese de Doutorado em Agronomia/Fitopatologia**, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2013. 62p.
- WILSON, P.J.; THOMPSON, K.; HODGSON, J.G. Specific leaf area and dry leaf matter content as alternative predictors of plant strategies. **The New phytologist**, v. 143, p. 155–162, 1999.
- YUN, S.C.; KIM, P.G.; PARK, E.W. Alteration of gas exchange in rice leaves infected with *Magnaporthe grisea*. **Journal Plant of Pathology**, v. 16, p. 279- 285, 2000.
- YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVIND- JEE SARIN, N.B. Overexpression of (-tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1428–1438, 2010.
- ZHAO, D.; GLYNN, N.C.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J.C.; SOOD, S. Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. **Plant Disease**, v. 95, n. 6, p. 640-647, 2011.
- ZIMMERMANN, W.; SEEMÜLLER, E. Degradation of raspberry suberin by *Fusarium solani* f. sp. *pisi* and *Armillaria mellea*. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 110, p. 192-199, 1984.
- ZUBEK, S.; TURNAU, K.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R.J. Response of endangered plant species to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria, **Mycorrhiza**, v. 19, p. 113–123, 2009.

CONCLUSÕES GERAIS

Quitosana e o silício não inibiram o crescimento micelial *in vitro* dos isolados, enquanto fosfito exerceu 100% de inibição. Carbendazim exerceu efeito fungitóxico para CML-2353 e E-596 e fungistático para CML-2466 e E-637, inibindo o crescimento micelial desses isolados em 60 e 80%, respectivamente. Não houve efeitos de dose para os produtos testados;

O desempenho fisiológico das cultivares submetidas ao DH evidenciou que a cv. Kottanadan foi tolerante a 12 DDH considerando a análise dos parâmetros biométricos, associada à maior porcentagem de sobrevivência e CRA, e menores alterações fotoquímicas das plantas. A cv. Bragantina foi suscetível a 10 DDH, apresentando 10% de sobrevivência, 22% de CRA e fotoinibição crônica;

A cv. Kottanadan apresentou maior nível de resistência à doença. Todas as plantas tratadas com Silício, Fosfito e Quitosana, de ambas as cultivares, apresentaram melhor comportamento quando comparadas aos respectivos controles negativos em relação à incidência e severidade da fusariose;

Fosfito e Silício são mais eficientes para a supressividade da fusariose e indução de resistência, considerando a invariabilidade da produção de biomassa para a cv. Kottanadan;

Houve similaridade para a época de aplicação preventiva e curativa dos produtos em ambas as cultivares, embora a aplicação curativa do Silício evidencie supressividade de *F. solani* na cv. Bragantina pela redução de F_0 , ABS/RC e DI_0/RC ;

Independentemente da severidade da doença, plantas inoculadas com *F. solani* permaneceram fotossinteticamente ativas após 180 dias.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo da pimenta-do-reino é de grande importância no cenário nacional e internacional, considerando o alto poder econômico gerado pela venda dessa especiaria. Especulações sobre o manejo correto ocorrem tanto no Brasil quanto em outros países produtores de pimenta-do-reino. Entretanto, poucos estudos científicos são realizados com seriedade, objetivando realmente conhecer a fisiologia de *Piper nigrum* associada a fatores bióticos e abióticos, que interferem na duração dos pimentais bem como na produtividade.

As doenças são a principal causa de perdas na produção e na qualidade comercial dos grãos. Pouco se sabe sobre a suplementação da pimenta-do-reino com nutrientes como o silício e/ou métodos alternativos para o controle da fusariose, que no Brasil, é a principal causa de morte dos pimentais. Nesse sentido, é importante considerar que nenhum nutriente por si só controla toda doença em todas as culturas. Sabe-se que plantas em desequilíbrio nutricional são mais suscetíveis à doenças. Por conseguinte, a forma como os nutrientes estão disponíveis para as plantas também influencia seu efeito sobre as doenças e alguns elementos minerais têm efeitos similares no vigor das plantas, mas efeitos opostos nas relações fisiológicas sobre as doenças.

É importante salientar também que além da fusariose, outros tipos de estresse podem afetar o desempenho da cultura. O déficit hídrico é uma situação comum, principalmente em algumas regiões do Brasil, onde os recursos hídricos são escassos, seja pela falta de chuva ou por irregularidades na distribuição pluviométrica.

Nesse contexto, qual seria a importância de se conhecer a fisiologia da planta e suas respostas aos vários tipos de estresse? Qual seria o papel da nutrição mineral e de nutrientes específicos na resistência da planta infectada ou na tolerância ao déficit hídrico? Como as vias metabólicas e fotossintéticas da pimenta-do-reino são afetadas em condições adversas? Qual o papel da anatomia no reconhecimento de alterações celulares impostas pelo fungo ou pela deficiência hídrica?

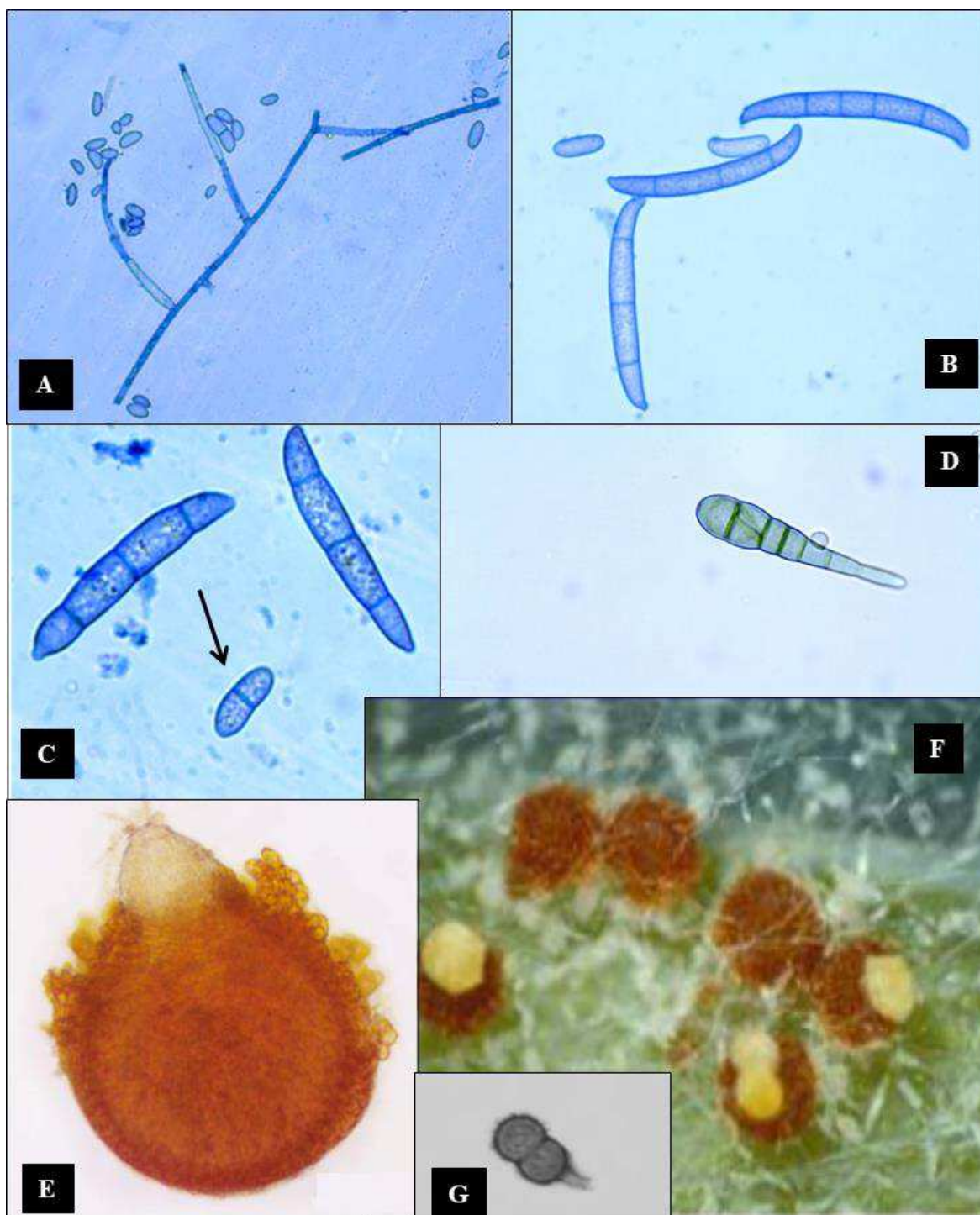
Neste estudo, o comportamento *in vitro* de *F. solani* f. sp. *piperis* cultivado em diferentes produtos foi avaliado como também a infecção do fungo nas cvs. Kottanadan e Bragantina em condições de viveiro. Respostas epidemiológicas, biométricas e fisiológicas do patossistema *Piper nigrum* x *F. solani* confirmam o pioneirismo dessa pesquisa e os poucos estudos sobre a resistência da cultura. Dos produtos utilizados na suplementação da planta infectada, Silício e Fosfito são recomendados para a indução, direta ou indireta,

dessa resistência. Entretanto, considerando o potencial do Silício na indução de resistência de plantas, como evidenciado na literatura e nos resultados obtidos neste estudo, maiores doses de silício e épocas de aplicação devem ser testadas na supressividade da fusariose.

Por fim, apesar dos resultados promissores como maior resistência à doença e maior tolerância ao déficit hídrico em viveiro, faz-se necessária a realização de experimentos em campo com as cultivares, sendo necessário o acompanhamento fisiológico, nutricional e fitopatológico dessas culturas.

ANEXOS

ANEXO 1



Estruturas de *F. solani* f. sp. *piperis*. A- Monofiálides; B- Macroconídeos; C- Microconídeo (seta); D- Ascósporo germinando; E e F- Peritécio; G- Clamidósporo.

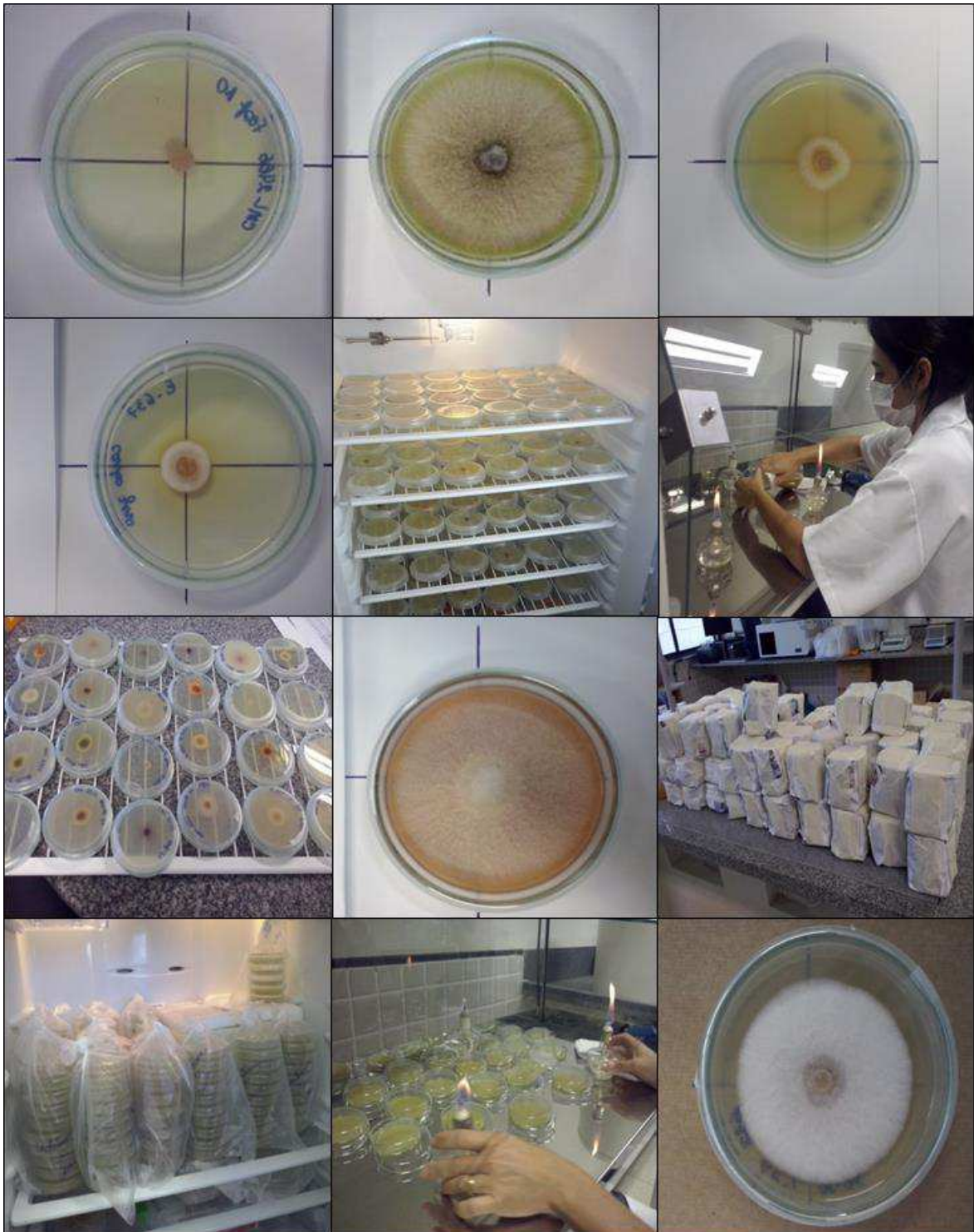
(Fotos: Verônica D'Addazio - A, B, C, D; Vaz, 2013 - E, G; Summerell et al., 2003 – F).

ANEXO 2



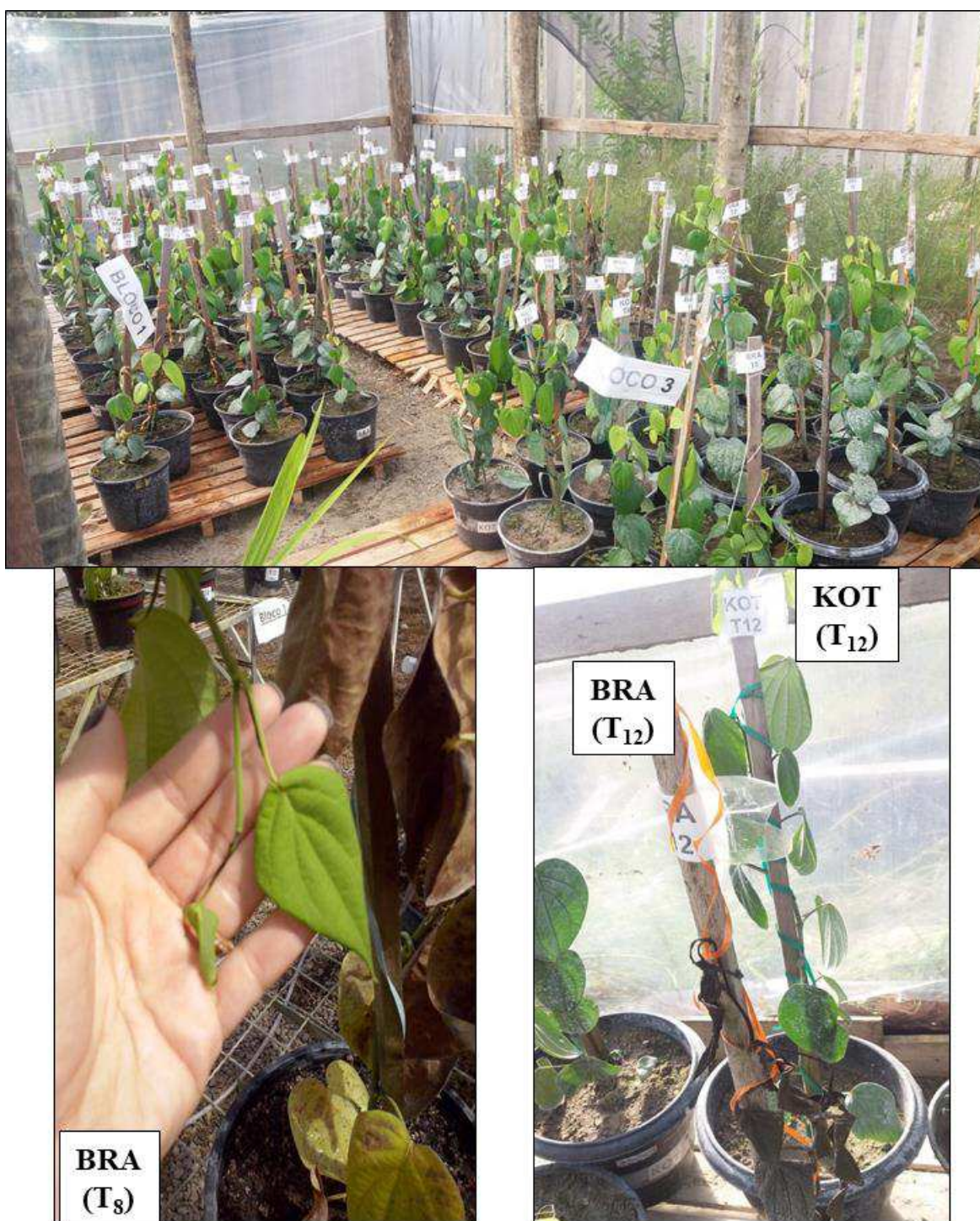
Lavoura de pimenta-do-reino no norte do Estado do Espírito Santo dizimada pela fusariose (Fotos: Antelmo R. Falqueto e Verônica D'Addazio).

ANEXO 3



Experimento *in vitro* (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 4



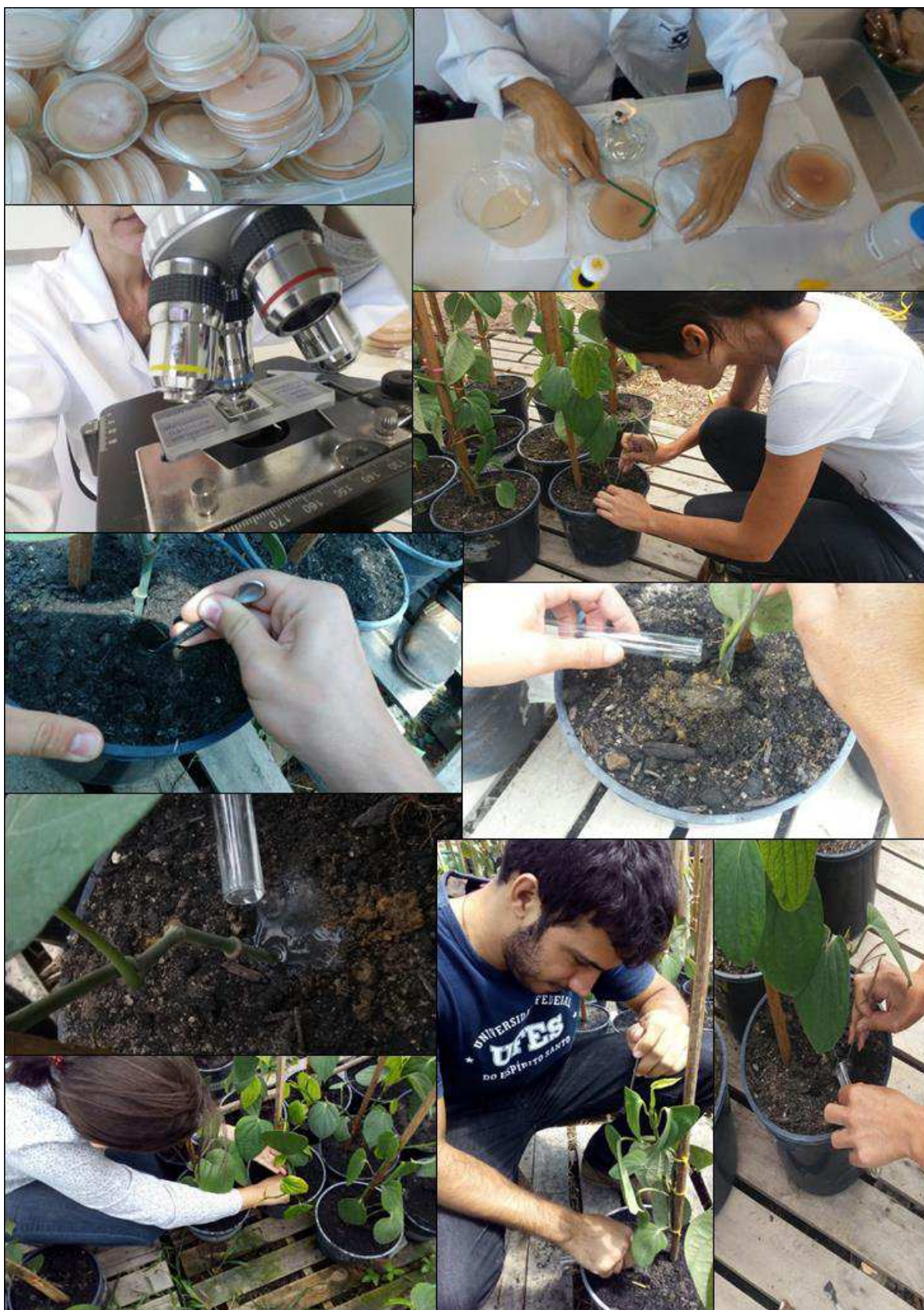
Experimento déficit hídrico - ciclos (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 5



Aplicação de solução nutritiva em mudas com 6 meses de idade (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 6



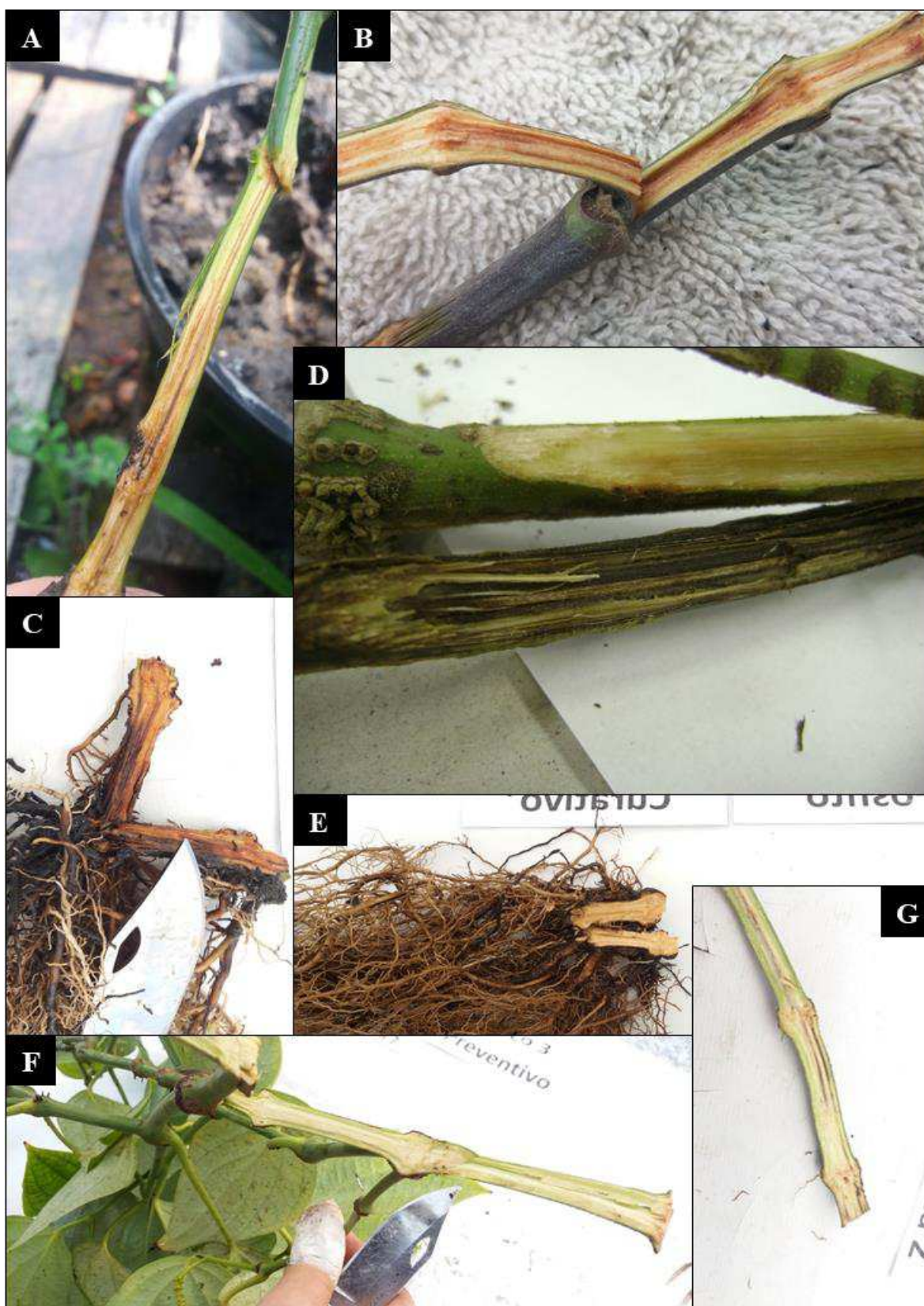
Contagem de esporos em câmara de Neubauer e inoculação dos vasos (Fotos: Verônica D'Addazio).

ANEXO 7



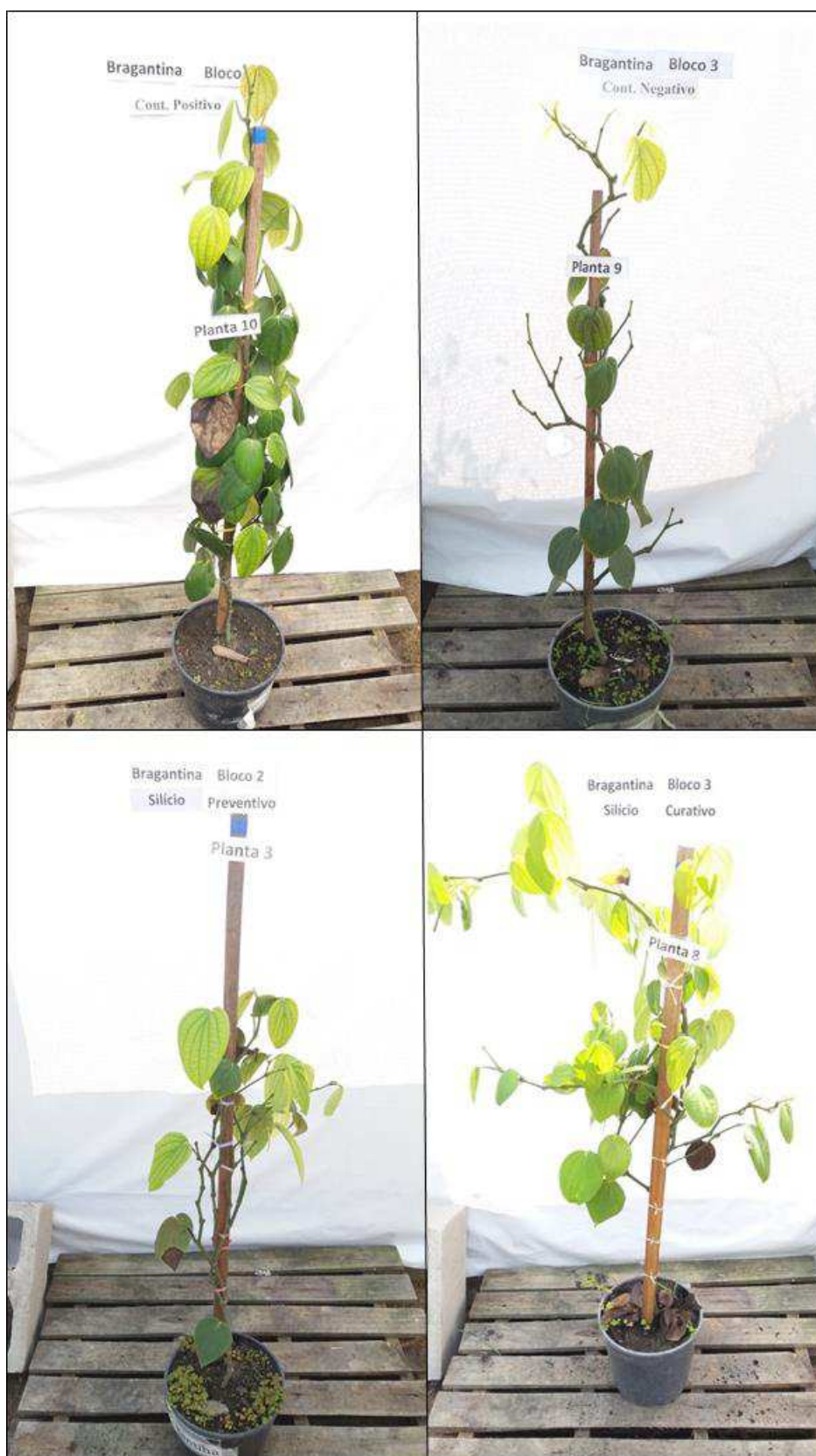
Postulado de kock (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 8



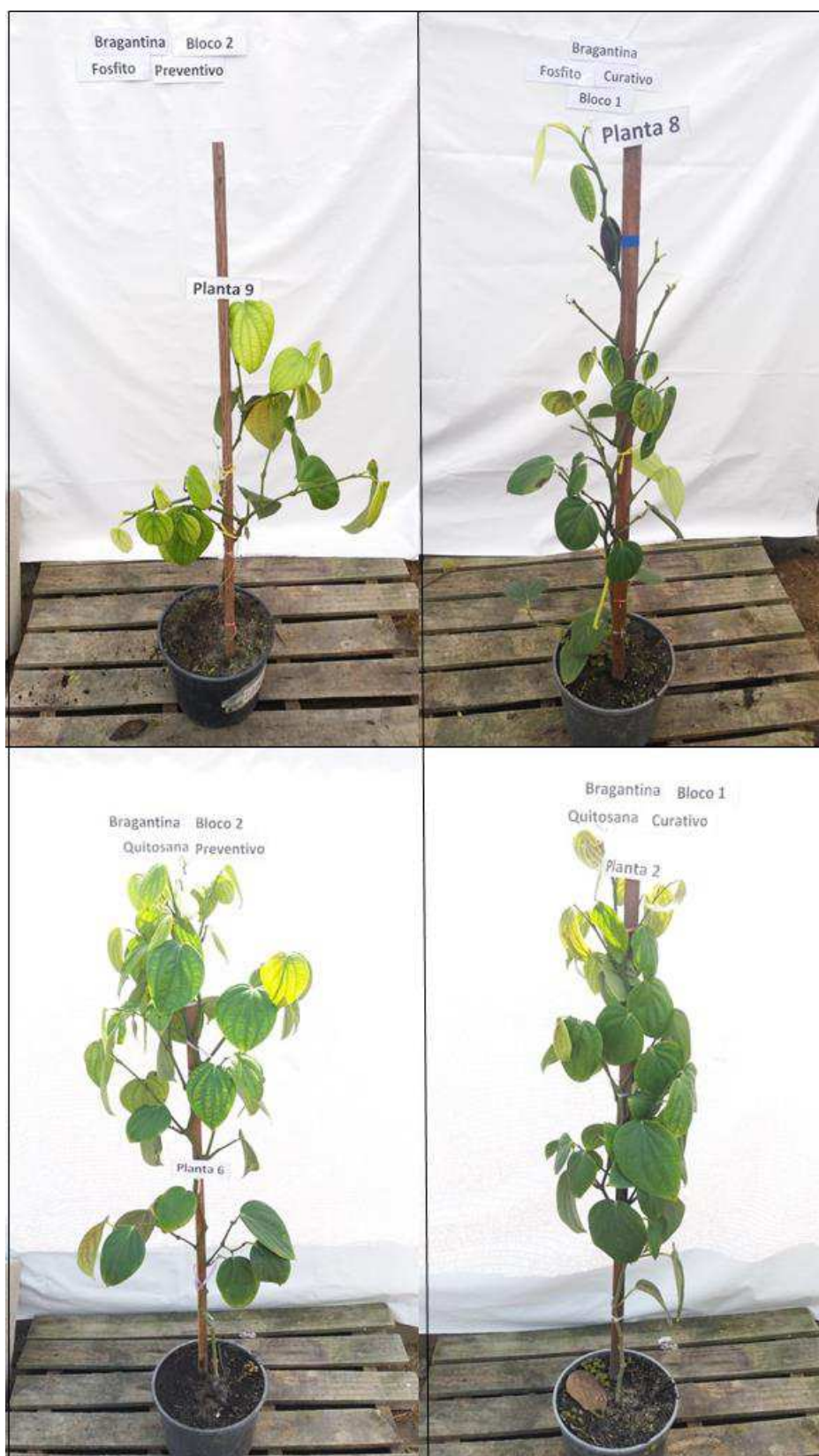
Interior da planta infectada. A,B,C – Bragantina: xilema e coleto; D – xilema de Kottanadan (claro) e de Bragantina (escuro); E,F,G – Kottanadan (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 9



Plantas de pimenta-do-reino aos 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 10



Plantas de pimenta-do-reino aos 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 11



Plantas de pimenta-do-reino aos 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 12



Plantas de pimenta-do-reino aos 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 13



Biometria aos 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 14



Colonização do fungo no xilema. Cultivar Bragantina (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 15



Raiz de Bragantina (BRA) e Kottanadan (KOT) aos 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 16



Fluorescência da clorofila *a* e teor de clorofila *a* cada 15 dias (a partir do dia zero) até 180 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

ANEXO 17



Fotossíntese aos 150 DAI (Fotos: Verônica D'Addazio)

