

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO CENTRO
UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

RENATA APARECIDA AHNERT DOS SANTOS

**ATIVIDADE ANTIFUNGICA DE COMPOSTOS DE
COBRE, ZINCO E POTÁSSIO NO CRESCIMENTO
MICELIAL E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE
*Fusarium solani f. sp. piperis***

São Mateus – ES

Julho 2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO CENTRO
UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

**ATIVIDADE ANTIFUNGICA DE COMPOSTOS DE
COBRE, ZINCO E POTÁSSIO NO CRESCIMENTO
MICELIAL E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE
*Fusarium solani f. sp. piperis***

RENATA APARECIDA AHNERT DOS SANTOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para a obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Orientador: Marcelo Barreto da Silva
Coorientador: Adriano Fernandes

São Mateus – ES

Julho 2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

A285a Ahnert dos Santos, Renata Aparecida, 1987-
Atividade antifúngica de compostos de cobre, zinco e potássio no crescimento micelial e germinação de conídeos de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* / Renata Aparecida Ahnert dos Santos. - 2019.
39 f. : il.

Orientador: Marcelo Silva.
Coorientador: Adriano Fernandes.
Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo.

1. Antifúngica. 2. *Fusarium solani*. 3. Cobre. 4. Zinco. 5. Potássio. I. Silva, Marcelo. II. Fernandes, Adriano. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 63

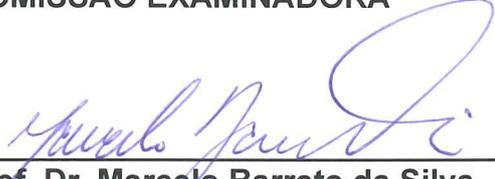
RENATA APARECIDA AHNERT DOS SANTOS

**ATIVIDADE ANTIFUNGICA DE COMPOSTOS DE COBRE, ZINCO E
POTÁSSIO NO CRESCIMENTO MICELIAL E GERMINAÇÃO DE
CONÍDIOS DE *Fusarium solani* f. sp. *piperis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Aprovada em 05 de julho de 2019.

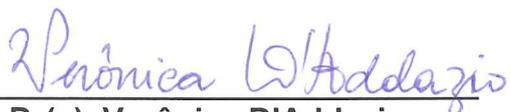
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Adriano Alves Fernandes
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador



**Prof(a). Dr(a). Verônica D'Addazio
Pinheiro**
Universidade Federal do Espírito Santo

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

A285a Ahnert dos Santos, Renata Aparecida, 1987-
Atividade antifúngica de compostos de cobre, zinco e
potássio no crescimento micelial e germinação de conídeos de
Fusarium solani f. sp. piperis / Renata Aparecida Ahnert dos
Santos. - 2019.
39 f. : il.

Orientador: Marcelo Silva.

Coorientador: Adriano Fernandes.

Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário
Norte do Espírito Santo.

1. Antifúngica. 2. Fusarium solani. 3. Cobre. 4. Zinco. 5.
Potássio. I. Silva, Marcelo. II. Fernandes, Adriano. III.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário
Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 63

PÁGINA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador Universo por me conceder uma vida com saúde e próximo de pessoas que me amam.

Agradeço aos meus pais, Frida Ahnert e Aylton Santos por sempre me apoiarem ao longo de minha vida, além de me dar suporte, atenção, carinho e amor sempre.

Agradeço ao meu esposo Geraldo Nogueira, por ter me suportado em meio as minhas crises e acompanhado nessa árdua caminhada do mestrado, por me apoiar sempre que precisei.

Agradeço ao professor Dr. Marcelo Barreto por disponibilizar a vaga de aluno e todo apoio concedido. Ao professor Dr. Adriano Alves Fernandes pela oportunidade de participar de um grande projeto..

Agradeço ao professor Dr. Antelmo Falqueto por todo apoio concedido, pelas conversas descontraídas e pelos inúmeros conselhos tanto profissional como pessoal.

Agradeço a Dr. Verônica D'Addazio pelos ensinamentos, pelo companheirismo, pela dedicação com o projeto e por todo apoio concedido.

Agradeço aos amigos João Vitor Garcia, Lana Long, Adriele Jardim, Sara Franschischeto, Kamila Passos, Pablo Vial, Lucas Sartóri e tantos outros. Por passarem comigo esses anos vencendo desafios, pelas conversas mega descontraídas por todo apoio e dedicação. Vocês foram muito especiais nessa jornada.

Agradeço amiga de Ana Paula Braido pelo companheirismo e dedicação em ajudar sempre que precisei, principalmente na disciplina de estatística. Uma amizade para a vida que o mestrado me deu.

Agradeço a Universidade Federal do Espírito Santo por conceder infraestrutura e equipamentos para o desenvolvimento do trabalho, além de funcionários bem preparados e atenciosos para auxílio no desenvolvimento das atividades. Aos professores do Programa de Pós Graduação em Agricultura Tropical pelos ensinamentos concedidos.

Agradeço a FAPES pela concessão da bolsa, e financiamento do projeto.

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULOS.....	1
1. CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA.....	2
1.1. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A DOENÇA DE PLANTAS.....	3
1.1.1. Fusarium X Pimenta-do-Reino.....	3
1.1.2. Mecanismos de resistência.....	5
1.1.3. Uso de Cobre, Zinco e Potássio como indutores de resistência.....	6
1.1.4. Mecanismos de ação do Potássio no controle de doenças de plantas.....	8
1.1.5. Mecanismos de ação do Zinco no controle de doenças de planta.....	9
1.1.6. Mecanismos de ação do Cobre no controle de doenças de plantas.....	10
2. CAPITULO 2 - ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS DE COBRE, ZINCO E POTÁSSIO NO CRESCIMENTO MICELIAL E GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>piperis</i>	13
Resumo.....	14
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	19
Resultados.....	21
Discussão.....	28
Conclusão.....	31
Referências.....	32

RESUMO

A busca por métodos e produtos alternativos de manejo das doenças vem aumentando nos últimos anos em decorrência dos efeitos nocivos que os agrotóxicos provocam ao meio ambiente e à saúde humana. 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, sendo o estímulo à defesa das plantas pela indução de resistência uma alternativa importante. A proteção natural das plantas contra agentes patogênicos é dada por diversos mecanismos. Ela é parcialmente baseada numa variedade de barreiras constitucionais já presentes nos tecidos vegetais antes de qualquer ataque ou infecção. Os micronutrientes têm sido apontados como um dos principais elementos minerais associados à indução de resistência à doenças em plantas. Assim, o objetivo desse estudo foi testar a atividade antifúngica *in vitro* utilizando CuSO_4 , ZnSO_4 e KCl contra *Fusarium solani* f. sp. *piperis*.

Palavras-chave: Nutrição Mineral; Crescimento Micelial; Produção de Esporos; Fusariose

ABSTRACT

The search for alternative methods and products of disease management has been increasing in recent years due to the harmful effects that pesticides cause to the environment and to human health. The studies to control fusariosis using alternative methods are related to the strategies of modern agriculture and go towards the economic and ecological interests, being the stimulus to the defense of the plants by the induction of resistance an important alternative. The natural protection of plants against pathogens is given by several mechanisms. It is partly based on a variety of constitutional barriers already present in plant tissues prior to any attack or infection. Micronutrients have been identified as one of the major mineral elements associated with the induction of resistance to plant diseases. Thus, the objective of this study was to test the antifungal activity in vitro using CuSO_4 , ZnSO_4 and KCl against *Fusarium solani* f. sp. *piperis*.

Keywords: Mineral Nutrition; Mycelial Growth; Spore Production; Fusarium

CAPÍTULOS

1. CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Mecanismos de resistência à doença de plantas

1.1.1 Fusarium X Pimenta do Reino

A carência de estudos visando o melhoramento, o manejo e o combate às doenças da pimenta-do-reino aguçam o desconhecimento científico sobre a cultura, e, por isso, a atividade é frequentemente relegada ao esquecimento, em detrimento de sua importância no cenário regional, nacional e até mesmo internacional. Como consequência, a Fusariose não é totalmente estudada, e as técnicas de prevenção e combate a esta, bem como a outras doenças, não são ainda eficientes na sua totalidade (SILVA et al. 2011).

De acordo com Lemos et al. (2011), um dos maiores problemas da fusariose em pimenta do reino é a redução do ciclo produtivo das plantas, estimado em 12 anos, para uma média de cinco a seis anos de sobrevivência. Por conseguinte, a doença torna-se mais severa dependendo da temperatura e umidade, tipo de solo, presença de nematóides, pH e teor de potássio (K) e susceptibilidade do hospedeiro (SANTOS, 2008).

A podridão-das-raízes, conhecida como fusariose, é a principal doença da pimenta-do-reino de ocorrência restrita ao Brasil (TREMACOLDI, 2010). A doença é responsável por dizimar lavouras inteiras. A fusariose foi detectada primeiramente no Estado do Pará em 1960 e, atualmente, ocorre em todos os Estados produtores (VENTURA e MILANEZ, 1983) e é responsável, anualmente, pela morte de milhões de pimenteiros (DUARTE et al., 2005).

O início da doença pode ocorrer nas raízes ou na parte aérea. Segundo Tremacoldi (2010), folhas amareladas e com queda prematura são características da doença iniciada pelas raízes. Com a evolução da doença, os internódios também amarelecem e caem até o secamento total da planta. O sistema radicular se reduz e necrosa, podendo evoluir até 20 cm acima do solo. Em termos de produtividade da cultura, a doença causa a queda dos frutos. No entanto, quando a doença tem início a partir da parte aérea das plantas, os ramos amarelecem e secam com a evolução da doença (SILVA et al., 2011).

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. Segundo Wheeler e Rush (2001), a morte da planta é causada por uma combinação de fatores, dentre eles as toxinas produzidas pelo fungo e as estruturas de defesa produzidas pela planta, as quais impedem a absorção e o transporte de água através da planta. Porém, outra forma de manifestação da doença é quando o apodrecimento atinge todo o sistema radicular. Nesses casos, a planta morre subitamente. Nos tecidos internos, pode-se observar o escurecimento dos vasos condutores, devido à obstrução causada pela ação do fungo.

Não há tratamento químico eficiente nem cultivares de pimenta-do-reino comerciais resistentes à fusariose (TREMACOLDI, 2010). Entretanto, alguns produtos alternativos, concernentes com as estratégias da agricultura moderna e vão em direção aos interesses econômicos e ecológicos, têm sido testados quanto a atividades antibióticas (fungicidas e fungistáticas) no controle de doenças de plantas. Assim, em decorrência dos efeitos nocivos que os defensivos agrícolas provocam ao meio ambiente e à saúde humana, o manejo de doenças utilizando produtos alternativos em substituição os métodos convencionais vem aumentando nos últimos anos.

1.1.2 Mecanismos de Resistência

A importância dos mecanismos de resistência induzida e adquirida nas plantas é conhecida de longa data, desde os trabalhos de CHESTER (1933) e GAÜMANN (1946). A proteção natural das plantas contra patógenos ocorre por mecanismos baseados em barreiras constitucionais preexistentes antes de qualquer infecção (Resistência Constitucional). Por conseguinte, por meio do estresse ou inoculação, mecanismos de proteção bioquímica podem ser ativados ou estimulados (Resistência Adquirida ou Induzida). Como foi descoberto que os estímulos ou sinais podem ser transportados desde os locais de inoculação em direção a tecidos mais distantes, promovendo reações sistêmicas de defesa, o termo “Sistêmica” foi agregado tanto à resistência adquirida quanto para a resistência Induzida (STICHER et al., 1997).

A indução de resistência em plantas a patógenos é conhecida desde o século XX (CHESTER 1933; GAÜMANN 1946) e, nos dias que correm, fitopatologistas já conseguem perceber a imensa possibilidade do fenômeno de indução de resistência para o controle de doenças em plantas (FODOR, JOZSA, e KIRALY 1998; STICHER, MAUCH MANI, e METRAUX 1997). No século XXI, o uso de resistência sistêmica induzida como instrumento inteligente de controle será a estratégia de escolha (OKU,1994), considerada a premente necessidade de se minimizarem as agressões ao meio ambiente e os danos à saúde decorrente do uso indiscriminado de pesticidas.

Entretanto, em alguns casos, o controle químico é indispensável, gerando aumento dos custos de produção. Além disso, seu uso indiscriminado pode causar sérios danos ao ambiente e ao homem. De acordo com Carvalho et al. (2007), visando aumentar a resistência das plantas às doenças de maneira sustentável, adubações equilibradas são consideradas medidas preventivas. Segundo os autores, essa medida contribui para a preservação do ambiente e da saúde humana por reduzir o emprego de fungicidas químicos.

1.1.3 Uso do Cobre, Zinco e Potássio como indutores de resistência

Um dos fatores limitantes para a produção agrícola está intimamente ligado as doenças de plantas. As práticas adotadas pelos produtores, como o uso de defensivos agrícola, promovem preocupações de segurança ambiental e alimentar. Na maioria das vezes, os produtores usam dessa prática por desconhecerem que a nutrição mineral de plantas tem um papel importante no controle de doenças. Os benefícios dessa prática são atribuídos ao baixo custo econômico e ao valor ecológico. Os micronutrientes têm sido associados à indução de resistência à doenças em plantas (ZAMBOLIM, et al., 2005).

Segundo Zambolim et al. (2012), os nutrientes minerais podem afetar, principalmente, dois mecanismos de resistência primária das plantas às doenças: (a) a formação de barreiras mecânicas (ex.: espessura das paredes das células) e (b) na síntese de compostos de defesa (ex.: compostos secundários, antioxidantes, fitoalexinas e flavonóides). Neste sentido, pode-se inferir que a nutrição mineral adequada pode influenciar o grau de resistência das plantas por atuar em modificações histológicas e/ou morfológicas e, também, na sua composição química. A ausência de um nutriente essencial nos tecidos da planta pode refletir diretamente sobre o patógeno, afetando sua sobrevivência, reprodução e desenvolvimento (HUBER; ARNY, 1985; MARSCHNER, 1986; PERRENOUD, 1990).

O índice de translocação mede a eficiência da planta em transportar um elemento da raiz para a parte aérea. Xiaohai et al. (2008) encontraram um índice de translocação igual a 0,78 para cobre e zinco em mamoneira. Este índice, quando superior a 1 (valor de referência), indica uma eficiente habilidade da planta em transportar os elementos das raízes para a parte aérea (MAHMUD et al., 2008, MELO et al., 2009).

Segundo Kabata-Pendias e Pendias (1984), o cobre não é prontamente móvel na planta sendo sua mobilidade limitada e particularmente dependente do estado nutricional em termos de cobre e de nitrogênio. A maior parte do elemento permanece nos tecidos das raízes e folhas até a senescência, e os órgãos jovens são os primeiros a desenvolver sintomas de deficiência de cobre. De acordo com estes autores, a translocação do cobre das raízes para a parte aérea é lenta devido o elemento estar ligado fortemente às paredes celulares das mesmas. Todavia, a sua mobilidade nos

tecidos vegetais pode aumentar com o nível de suprimento do elemento. Silva et al. (2007) também encontraram maiores valores de índice de translocação para o zinco do que para o cobre em plantas de soja cultivadas em solos contaminados por esses elementos. Alguns autores consideram o zinco altamente móvel ao passo que outros atribuem a ele mobilidade intermediária (MARSCHNER, 1995). De fato, quando existe um grande suprimento de zinco, muitas espécies de plantas translocam quantidades apreciáveis do elemento das folhas velhas para órgãos de crescimento, mas quando as mesmas espécies estão em condições de deficiência, apresentam baixa mobilidade do nutriente nas folhas velhas (LONERAGAN, 1975). O potássio, por sua vez, é caracterizado por alta mobilidade nas plantas em todos os níveis, no interior de células individuais, dentro dos tecidos, e no transporte a longas distâncias pelo xilema e floema.

O uso do zinco tem se mostrado eficiente no controle de doenças em plantas. Borges et al. (1991) em Tenerife, na Espanha, verificaram que a adubação com zinco, durante três anos consecutivos, resultou em redução significativa no surgimento do Mal-do-Panamá em bananeiras do “Dwarf Cavendish”. Zambolim et al. (2005) relatam que, em algodão cultivado em solo com aplicação de 100 ppm de zinco aumentou a resistência das plantas ao *Fusarium oxysporium* f.spp. O papel do zinco, nesse caso, é aumentar o conteúdo de ácido ascórbico e carboidratos das plantas, conferindo, dessa forma, resistência a murcha-de-fusarium. A redução nos níveis de cobre poderia comprometer a proteção do tecido vegetal contra infecção por bactérias e na redução da população bacteriana na superfície foliar (MENEGUIM et al., 2007).

O potássio reduz a suscetibilidade das plantas a parasitas obrigatórios e facultativos. Este efeito pode ser bastante drástico no caso da podridão-do-colmo causado por *Helminthosporium signmoideum*. A doença pode ser controlada simplesmente com aplicação de fertilizantes potássicos (ISMUNADJI, 1976, apud MARSCHNER 1988). O potássio, frequentemente, reduz a incidência de danos causados por várias doenças, como crestamento-foliar bacteriano, podridão-do-colmo e mancha foliar no arroz e ferrugem-do-trigo; mancha-bacteriana no algodão, mancha-de-*Cercospora* em mandioca e em *Vigna radiata* e podridão de mudas causadas por *Rhizoctonia solani* em *Vigna radiata* e no feijão-caupi (TANDON; SEKHON, 1989, apud FAGERIA et al., 1997).

1.1.4 Mecanismos de ação do Potássio (K) no controle de doenças de plantas

É conhecimento comum aos produtores de que a ocorrência de pragas e doenças está relacionado ao estado nutricional das plantas. Maiores concentrações de potássio (K) diminuem a competição interna de agentes patogênicos (Holzmueller et al., 2007). Segundo Mengel (2001), este estado nutricional permite às plantas alocar mais recursos para desenvolver paredes celulares e prevenir infecção por patógenos e ataques de insetos.

Perrenoud (1990) registrou que a aplicação de K diminuiu a incidência de doenças na maioria dos casos analisados. Mas, às vezes, a ausência de efeitos ou mesmo efeitos contrários foram observados. O efeito benéfico de K foi mais evidente para doenças fúngicas e bacterianas (70 e 69% dos estudos relataram uma diminuição da incidência das doenças causadas por esses microorganismos).

O uso do K para induzir resistência tem relação direta com o metabolismo primário e secundário da planta, uma vez que pode tornar a planta não atrativa aos patógenos, devido à sua ação direta na anatomia e fisiologia vegetal.

O K é essencial para o funcionamento de múltiplas enzimas de plantas, além de regular o padrão de metabolitos. Em concentrações adequadas, a síntese de compostos de alto peso molecular (como proteínas, amidos e celulose) aumenta acentuadamente, diminuindo, assim, as concentrações de compostos de baixo peso molecular, como açúcares solúveis, ácidos orgânicos, aminoácidos e amidas, nos tecidos vegetais. Estes compostos de baixo peso molecular são importantes para o desenvolvimento de infecções e infestações por patógenos. Portanto, concentrações mais baixas desses compostos aumentam a vulnerabilidade das plantas aos ataques de pragas e doenças (Mengel, 2001).

O K influencia na doença de plantas em virtude da ativação de enzimas envolvidas na respiração e fotossíntese, processos fornecedores de cadeias de carbono para a síntese de substâncias de defesa, bem como na regulação estomática influenciando no transporte de solutos via fluxo de massa (BLOOM, 2004). A abertura e o fechamento dos estômatos é um efeito altamente específico do potássio. Na deficiência de potássio, os estômatos não se abrem regularmente, e, conseqüentemente, menor absorção de gás carbônico ocorre e, portanto, menor assimilação fotossintética (MALAVOLTA, 2006).

O mecanismo de ação do K no controle da severidade de doenças de plantas ainda não é bem compreendido. A resistência pode estar relacionada, em parte, ao efeito do K em promover o espessamento de paredes celulares em células da epiderme, ao escape da doença, como resultado do crescimento mais vigoroso da planta ou a uma fisiologia mais fortalecida da planta.

Sarwar (2012) concluiu que o menor dano de patógenos nas plantas nutridas com K pode ser atribuído a uma falta de preferência sob suficientes concentrações de nutrientes, bem como à síntese de compostos defensivos que levam a uma maior mortalidade, como o aumento das concentrações de fenol, que desempenham um papel crítico na resistência da plantas (Prasad, 2010).

1.1.5 Mecanismos de ação do Zinco (Zn) no controle de doenças de plantas

O Zinco é um metal componente de muitas enzimas desidrogenases, peptídeos e outras enzimas metálicas (HUBER, 1989 ; ZAMBOLIM; VENTURA, 1996). Em nível enzimático, o Zn desempenha duas funções: é necessário para a síntese de triptofano que, após várias reações, produz o ácido indolacético (AIA); (1) o AIA é uma auxina que, como tal, contribui para aumentar o volume celular, promovendo o crescimento dos tecidos pelo seu alongamento e (2) regula a atividade da ribonuclease (RNase) que, hidrolisando o RNA, causa a diminuição da síntese proteica e, portanto, da multiplicação celular (MALAVOLTA, 1980, 2006).

Com relação à susceptibilidade das plantas à doenças, os resultados descritos mostram que o Zn pode tanto reduzi-la como aumentá-la e, em alguns casos, não apresentar qualquer efeito (Graham e Webb, 1991; Grewal et al., 1996). Na maioria dos casos, a aplicação de Zn reduziu a gravidade da doença, o que poderia ser devido ao efeito tóxico de Zn sobre o patógeno diretamente e não através do metabolismo da planta (Graham e Webb, 1991). O zinco desempenha um papel importante na síntese de proteínas e amido, e, portanto, uma baixa concentração de zinco induz o acúmulo de aminoácidos e açúcares redutores em tecido vegetal (Marschner, 1995; Römheld e Marschner, 1991). Como ativador de Cu / Zn-SOD, Zn está envolvido na proteção de membrana contra danos oxidativos através da desintoxicação de radicais superóxido (Cakmak, 2000).

1.1.6 Mecanismos de ação do Cobre (Cu) no controle de doenças de plantas

Em muitos casos, doenças de plantas são difíceis de controlar dependendo do nível da infecção. Os nutrientes tem uma melhor resposta quando usados antes do contato com o patógeno, conferindo à planta resistência ao agente causador da doença. É de cunho científico que o cobre tem um papel importante no controle de alguns agentes patogênicos. Em relação ao uso do cobre, podem estar envolvidos e operando simultaneamente vários mecanismos de resistências de plantas à patógenos. Um dos mais conhecido é a toxicidade direta, como bactericida e fungicida. Muitas doenças são atenuadas com o seu uso. O cobre é essencial nos processos fisiológicos da planta, que influenciam a resistência ou a suscetibilidade. Porém, o seu uso neste aspecto ainda tem sido limitado (GRAHAM, 1983 ; GRAHAM; WEBER, 1991). O controle de agentes patogênicos com o uso de cobre pode não estar diretamente ligado ao microrganismo mas sim à resistência que a planta adquiriu. Assim como o zinco, o cobre compõe muitas enzimas e está envolvido na síntese de proteínas e carboidratos.

O cobre é um regulador ou um fator essencial em vários sistemas enzimáticos envolvidos na defesa de plantas à infecção, na produção de compostos antimicrobianos e na resistência geral às doenças (GRAHAM ; GRAHAM; WEBER, 1991). Por exemplo, o uso de cloreto de cobre induz a atividade de chalcone sintetase, enzima-chave na biossíntese de diversos flavonóides envolvidos na resistência de plantas às doenças. Uma amino oxidase contendo cobre está envolvida na produção de H₂O₂ nas paredes celulares (LAURENZI et al., 2002). Baixas quantidades de cobre estimulam a atividade da peroxidase, enquanto alta concentração reduz a atividade da enzima. A redução da atividade da peroxidase pode resultar no acúmulo de peróxidos, em virtude do aumento na respiração dos tecidos infectados. Outra enzima

que pode degradar peróxidos é a catalase. O aumento na concentração de cobre pode reduzir também a atividade da catalase. A inibição da peroxidase e da catalase pode resultar no acúmulo de peróxidos, que são altamente bactericidas. Alta concentração de cobre induz a atividade da polifenoloxidase, que é responsável pela conversão de compostos fenólicos e substâncias bactericidas, denominadas de quinonas. Em síntese, o cobre pode induzir resistência pelo aumento da síntese

de peróxidos, compostos fenólicos e quinonas (ZAMBOLIM et al., 2012).

As lacases contendo cobre são um fator importante de virulência para muitos fungos patogênicos em plantas, tornando-os capazes de degradar barreiras físicas e de detoxificar fitoalexinas e taninos no corte de infecção. A expressão de lacase em fungos pode ser regulada por micovírus que infectam os patógenos fúngicos para influenciar a virulência (MAYER; STAPLES, 2002). O efeito dos fungicidas cúpricos está relacionado diretamente à morte dos esporos no início do processo de germinação, antes que penetrem nos tecidos.

Sabe-se que íons Cu^+ e Cu^{++} formam inúmeros complexos com grupamentos sulfídricos, amino, carboxílico e hidroxílico de componentes, mas simultaneamente, inibem enzimas não dependentes do grupo sulfidrílico, como a sacarase, catalase, arginase, asparaginase, betaglicosidade e outras. O íon cobre forma complexo estável principalmente com o grupo sulfidril, o qual parece ser o sítio de ação primária nas células dos microrganismos sensíveis. Neste caso, o íon Cu^+ é mais ativo e mais tóxico do que o íon Cu^{++} . A predominância do íon mono ou bivalente depende do estado de redução dentro dos compartimentos celulares. Um dos primeiros efeitos dos íons de cobre na células é o aumento da permeabilidade das membranas, o que resulta no rápido extravasamento de sais armazenados dentro da célula, principalmente de potássio, além de outros distúrbios que levam a inativação e morte dos esporos. Os íons cobre podem também ser rapidamente acumulados dentro da célula, em virtude da capacidade de formar complexos com grande número de enzimas contendo grupos SH, amino, carboxílico e hidroxílico. Isto resulta em inativação de enzimas essenciais de classes diferentes, que necessitam desses grupamentos para exercerem sua função normal. Supõe-se, também, que várias rotas metabólicas e atividades dos microrganismos sensíveis são reduzidas por esses fungicidas, pelo fato de grande número de enzimas e proteínas dentro das células sensíveis serem afetados por estes fungicidas (ZAMBOLIM et al., 2012).

É muito difícil determinar o sítio primário de ação destes compostos, em virtude de ação destes compostos, em virtude do ataque simultâneo em vários componentes celulares essenciais, o que resulta em ação generalizada. Isto traz grandes vantagem, pois não se corre o risco do aparecimento de populações resistentes a estes compostos, principalmente pelos organismos capazes de

produzirem grande número de compostos sulfidrílicos, os quais poderiam, em maior ou menor grau, prenderem ou inativarem esses fungicidas (ZAMBOLIM ; VALE, 2003).

**CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS DE COBRE,
ZINCO E POTÁSSIO NO CRESCIMENTO MICELIAL E GERMINAÇÃO DE
CONÍDIOS DE *FUSARIUM SOLANI* F. SP. *PIPERIS***

Artigo submetido à revista: Microbiology Research Journal International

RESUMO

AHNERT Renata Aparecida Santos; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; julho de 2019; **Atividade anti fungica de compostos de cobre, zinco e potássio contra *Fusarium solani* f. sp *piperis* in vitro**; Orientador: Marcelo Barreto da Silva, Coorientador: Adriano Alves Fernandes.

A fusariose é uma doença que causa grandes prejuízos econômicos para produtores de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Apesar ser uma doença de grande importância, não há registro de controle químico eficiente. Assim, objetivou-se avaliar a atividade antifúngica de compostos de cobre, zinco e potássio no crescimento micelial e germinação de conídios de *Fusarium solani* f sp *piperis* in vitro. O fungo foi mantido em meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Para a inoculação, discos de 7 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., com fotoperíodo de 12h, por 15 dias. Os micronutrientes foram fornecidos na forma de sulfatos, CuSO₄ e ZnSO₄, nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 mmol/L. O macronutriente potássio (K) foi fornecido na forma de cloreto de potássio (KCl) nas concentrações de 30, 60, 90,120 e 150 mmol/L. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e dez repetições. O CuSO₄ mostrou efeito fungicida nas concentrações de 10, 15 e 20 mmol/L. Para o ZnSO₄ o crescimento micelial foi inibido completamente nas concentrações de 15 e 20 mmol/L. Não houve inibição ou redução do crescimento fúngico na presença de K. O cobre e o zinco, em concentrações mínimas foram eficientes no controle do crescimento micelial e na inibição da germinação de esporos de *F. solani* f. sp. *piperis*. Contrariamente, o potássio não exerceu efeito fungicida ou fungistático sobre o fungo.

PALAVRAS-CHAVE- fusariose, nutrientes, inibição

ABSTRACT

AHNERT Renata Aparecida Santos; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; julho de 2019; **Atividade anti fungica de compostos de cobre, zinco e potássio contra *Fusarium solani* f. sp *piperis* in vitro**; Orientador: Marcelo Barreto da Silva, Coorientador: Adriano Alves Fernandes.

Fusariosis is a disease that causes great economic damage to black pepper producers (*Piper nigrum* L.). Although it is a disease of great importance, there is no effective chemical control. The objective of this study was to evaluate the antifungal activity of copper, zinc and potassium compounds in the mycelial growth and germination of conidia of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* in vitro. The fungus was maintained on PDA (Potato Dextrose Agar). For inoculation, 7 mm discs from the pure culture were transferred to Petri dishes containing the same medium. The plates were incubated at 25 ° C in B.O.D., with photoperiod of 12h, for 15 days. The micronutrients were supplied as sulphates, CuSO₄ and ZnSO₄ at the concentrations of 1, 5, 10, 15 and 20 mmol/L. The potassium macronutrient (K) was supplied as potassium chloride (KCl) at the concentrations of 30, 60, 90, 120 and 150 mmol/L. The experiment was carried out in a completely randomized design, with 6 treatments and 10 replicates. CuSO₄ showed a fungicidal effect at concentrations of 10, 15 and 20 mmol/L. For ZnSO₄ the mycelial growth was completely inhibited at concentrations of 15 and 20 mmol/L. There was no inhibition or reduction of fungal growth in the presence of K. Copper and zinc in minimal concentrations were efficient in controlling mycelial growth and in inhibiting the spore germination of *F. solani* f. sp. *piperis*. In contrast, potassium had no fungicidal or fungistatic effect on the fungus.

KEY WORDs - fusariosis, nutrient, inhibition

INTRODUÇÃO

Os fungos patogênicos incluem um grande e heterogêneo grupo de organismos que ocupam importante posição tanto na agricultura como nas populações naturais (Burdon e Silk, 1997). O gênero *Fusarium* spp. é classificado como um ascomiceto, caracterizado por um micélio hialino, ramificado e septado, com esporóforos em forma de fiálides e conídios de forma e tamanho variável. Apresenta macroconídeos fusiformes, com vários septos (LEAL et al., 2005). As espécies de *Fusarium* são conhecidas como fitopatógenos, saprófitas, com distribuição mundial (Hennequin et al., 1999).

Fusarium solani (Mart.) Appel & Wr. emend. Snyd. & Hans. f. sp. *piperis*, Albuquerque (Telemorfo *Nectria haematococca* Berk. & Br. f. sp. *piperis* Albuquerque) é agente causal da fusariose e tem trazido grandes prejuízos econômicos para produtores de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), dizimando lavouras inteiras. A doença pode iniciar no sistema radicular ou na parte aérea. Quando iniciada pelas raízes, o sistema radicular é reduzido e se torna necrótico, ocasionando folhas amareladas e flácidas e queda prematura das mesmas. Por outro lado, uma vez iniciada na parte aérea, esta é caracterizada pela presença de ramos amarelados em uma planta bem vigorosa. Com a evolução da doença, é observado o secamento na parte superior e inferior da planta (Ventura e Costa, 2004; Tremacoldi, 2010, Silva et al., 2011). De acordo com Pandey et al. (2018), as perdas na produção devido a doenças de plantas são um desafio considerável que o atual sistema de produção agrícola enfrenta mundialmente, representando pelo menos 25% do total. Apesar da fusariose ser uma doença de grande importância, não há registro de controle químico eficiente.

Os métodos mais utilizados no controle de isolados patogênicos de *Fusarium* incluem a utilização de cultivares resistentes, desinfestação do solo com fungicida químico e rotação de cultura utilizando plantas não hospedeiras (Agrios, 1988). A utilização de cultivares resistentes seria uma alternativa, porém dificuldades como a identificação dos genes de resistência ou a habilidade de adaptação do patógeno à novos genótipos podem tornar a resistência uma solução temporária (Sutton, 2000). Além disso, o controle químico de *Fusarium* spp. não é totalmente eficiente, uma vez que o patógeno penetra no tecido vascular da planta (Tokeshi, 2000). A rotação de

cultura seria de pouca eficiência já que este patógeno é um fungo de solo, capaz de sobreviver por longos períodos nos restos de cultura e apresenta várias espécies vegetais como hospedeiras (Sutton, 2000).

Os fungicidas sintéticos convencionais são em grande parte considerados os meios mais eficazes e econômicos para o tratamento da doença. No entanto, a intensidade de uso e o modo de ação específico da maioria dos fungicidas sintéticos acabam por levar a problemas de resistência e a um aumento do custo ambiental. (Pandey et al., 2018; Kah et al., 2018; Sun et al., 2018). Assim, formas alternativas de controle despertam interesse cada vez maior, levando à investigação e ao desenvolvimento de produtos eficazes e sustentáveis para o controle de fitopatógenos (Deliopoulus et al., 2010). De acordo com Zambolim et al. (2005), alguns micro e macronutrientes têm sido apontados como um dos principais elementos minerais associados à indução de resistência à doenças em plantas.

Devido ao seu baixo custo, atividade protetora e redução do risco de desenvolvimento de resistência controlado pelo amplo modo de ação contra os patógenos, os compostos de cobre têm sido explorados para proteger as culturas agrícolas de muitas pragas, incluindo aquelas que causam um grande número de infecções bacterianas e fúngicas. (Keller et al., 2017). Segundo Zambolim et al. (2012), os íons de Cu em contato com os esporos ou com o tubo germinativo do patógeno podem se acumular na membrana ou penetrar e se concentrarem no interior dos esporos ou micélio, onde atuam inibindo enzimas essenciais ao processo metabólico dos microrganismos. Uma vez acumulados no interior das células, seus efeitos tornam-se irreversíveis.

O interesse de pesquisa em derivados de Zn está aumentando (Savi et al., 2013a, 2013b), devido à sua forte atividade antimicrobiana em baixas concentrações e também por suas características não tóxicas em quantidades adequadas. O zinco sendo micronutriente essencial desempenha um papel importante em muitos processos metabólicos integrais (Rout e Das, 2003). O Zn também pode ajudar a aumentar a biossíntese de clorofilas e carotenóides e melhorar o aparato fotossintético da planta (Aravind e Prasad, 2004). As propriedades optoelétricas, físicas e antimicrobianas significativas do zinco oferecem grande potencial para aumentar a produtividade agrícola (Hussain et al., 2016). Seu modo de ação ainda não está completamente esclarecido, mas sabe-se que atua diretamente sobre o patógeno (Zambolim et al., 2012).

Entre os macronutrientes de grande importância para a planta, o potássio é um dos elementos que apresenta resultados muito positivos na redução da incidência de pragas e doenças (Graham, 1983; Sharma et al., 2005), sendo capaz de reduzir a severidade de mais de 100 fungos (Raij, 1990). De acordo com Taiz e Zeiger (2004), o potássio é um nutriente essencial para as plantas, requerido como cofator de mais de 40 enzimas, sendo muitas delas envolvidas na respiração e na fotossíntese. Dessa forma, é um nutriente importante na prevenção de doenças de plantas, uma vez que está envolvido em muitos processos celulares que influenciam a severidade da doença. Seu efeito na prevenção de doenças causadas por bactérias, fungos e nematoides tem sido relatado (Zambolim et al., 2012; Rawat et al., 2016). O aumento de resistência a doenças pela fertilização com o potássio tem sido atribuído a vários mecanismos, como permeabilidade das células e decréscimos da suscetibilidade dos tecidos a maceração e penetração do patógeno (Zambolim et al., 2012; Wang et al., 2013). O potássio influencia na redução de doenças de plantas em virtude da ativação de enzimas envolvidas na respiração e fotossíntese, processos fornecedores de cadeia de carbono para síntese de substâncias de defesa, bem como a regulação estomática influenciando no transporte de solutos via fluxo de massa (Bloom, 2004).

A utilização de nutrientes com ação antifúngica pode ser uma estratégia de controle de patógenos que causam inestimáveis perdas econômicas. Os nutrientes como cobre, zinco e potássio são de fácil acesso, têm baixo custo e ainda contribuem para nutrição vegetal. O objetivo desse estudo foi verificar a atividade antifúngica de CuSO_4 , ZnSO_4 e KCl contra *Fusarium solani* f.sp. *piperis*.

MATERIAL E MÉTODOS

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 7 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.

Concentrações de Cobre, Zinco e Potássio

Os micronutrientes foram fornecidos na forma de sulfatos, CuSO₄ e ZnSO₄, nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 mmol/L. O macronutriente Potássio (K) foi fornecido na forma de Cloreto de Potássio (KCl) nas concentrações de 30, 60, 90, 120 e 150 mmol/L. Os nutrientes foram diluídos em água destilada esterilizada e no momento do plaqueamento foram adicionados ao meio de cultura BDA, em capela de fluxo laminar. Após a solidificação, um disco de 7mm de diâmetro de micélio fúngico, com 15 dias de idade, foi transferido para o centro de cada placa de Petri, de 68 mm de diâmetro. Utilizou-se como testemunha o meio BDA com o disco do fungo (controle). As placas foram vedadas com Parafilm e mantidas em BOD à 25°C, com fotoperíodo de 12 h.

Crescimento Micelial

A avaliação do crescimento micelial de *F. solani* nas placas controle e nos tratamentos foi determinada a cada 2 dias, medindo-se o diâmetro das colônias em direções ortogonais com auxílio de um paquímetro, até o momento em que a colônia do tratamento controle atingisse a borda da placa, ou seja, 12 dias após a inoculação (DAI). A porcentagem de inibição de crescimento foi calculada segundo Guo et al. (2006), onde o índice antifúngico (%) = $(1 - D_a/D_b) \times 100$, sendo: D_a o diâmetro da zona de crescimento na placa teste e D_b o diâmetro da zona de crescimento na placa controle.

Contagem de Esporos

A suspensão de esporos de *F. solani* nas placas controle e nos tratamentos 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 10^6 esporos por mL⁻¹.

Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizados (DIC), com 6 tratamentos e dez repetições para cada tratamento (Cu, Zn e K). Cada repetição foi constituída por uma placa de Petri. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey por meio do software Genes (Cruz, 2016).

RESULTADOS

Crescimento Micelial

O crescimento micelial de *F. solani* foi dependente do nutriente e da dose utilizada. O crescimento fúngico foi completamente inibido em alguns tratamentos. O CuSO_4 mostrou efeito fungicida nas concentrações de 10, 15 e 20 mmol/L, inibindo totalmente o crescimento das colônias (Figura 1 A). Porém, na concentração de 5 mmol/L foi observado efeito fungistático uma vez que o crescimento micelial foi iniciado 6 dias após a inoculação (Figura 2 A). Para o ZnSO_4 o crescimento micelial foi inibido completamente nas concentrações de 15 e 20 mmol/L, apresentando efeito fungicida e significativamente reduzido nas concentrações de 5 e 10 mmol/L, exercendo efeito fungistático (Figura 1 B). Este resultado é ratificado após oito dias de incubação com a observação do crescimento micelial na concentração de 10 mmol/L (Figura 2 B). Houve diferença significativa para o tratamento com KCl ($P \leq 0.05$) entre as concentrações testadas. Entretanto, não houve inibição ou redução do crescimento fúngico na presença deste nutriente (Figura 1 C e 2 C).

Porcentagem de inibição de crescimento (P.I.)

O índice de inibição de crescimento micelial de *F. solani*, confirmou a eficiência da atividade antifúngica de CuSO_4 e ZnSO_4 (Tabela 1). Para o CuSO_4 , na concentração de 5 mmol/L, houve inibição maior que 50% 12 DAI. As demais concentrações inibiram 100% o crescimento do fungo. Resultados semelhantes foram observados para o ZnSO_4 (Tabela 1). Entretanto, para o KCl, em nenhuma das concentrações avaliadas foi observado P.I. abaixo de 50%. Aos 2 DAI houve indução de crescimento (Tabela 1), não havendo efeito fungistático ou fungicida para este nutriente.

Número de conídios

Doze dias após inoculação (12 DAI), o número de conídios de *F. solani* f. sp. *piperis* foi inibido na presença de CuSO_4 , ZnSO_4 e KCl. O micronutriente Cu reduziu em 84% a germinação de conídios na concentração de 1mmol/L em relação ao

controle. O mesmo não foi observado para Zn na mesma concentração (Figura 3 A, Tabela 2). Nas demais concentrações de Cu e Zn, a germinação de conídios foi significativamente inibida ($P \leq 0.05$), com valores maiores que 80%. Para o tratamento com K, houve redução de 20,6% no número de conídios na concentração de 30 mmol/L. As demais concentrações apresentaram redução maior que 50% quando comparadas ao controle (Figura 3 B, Tabela 2).

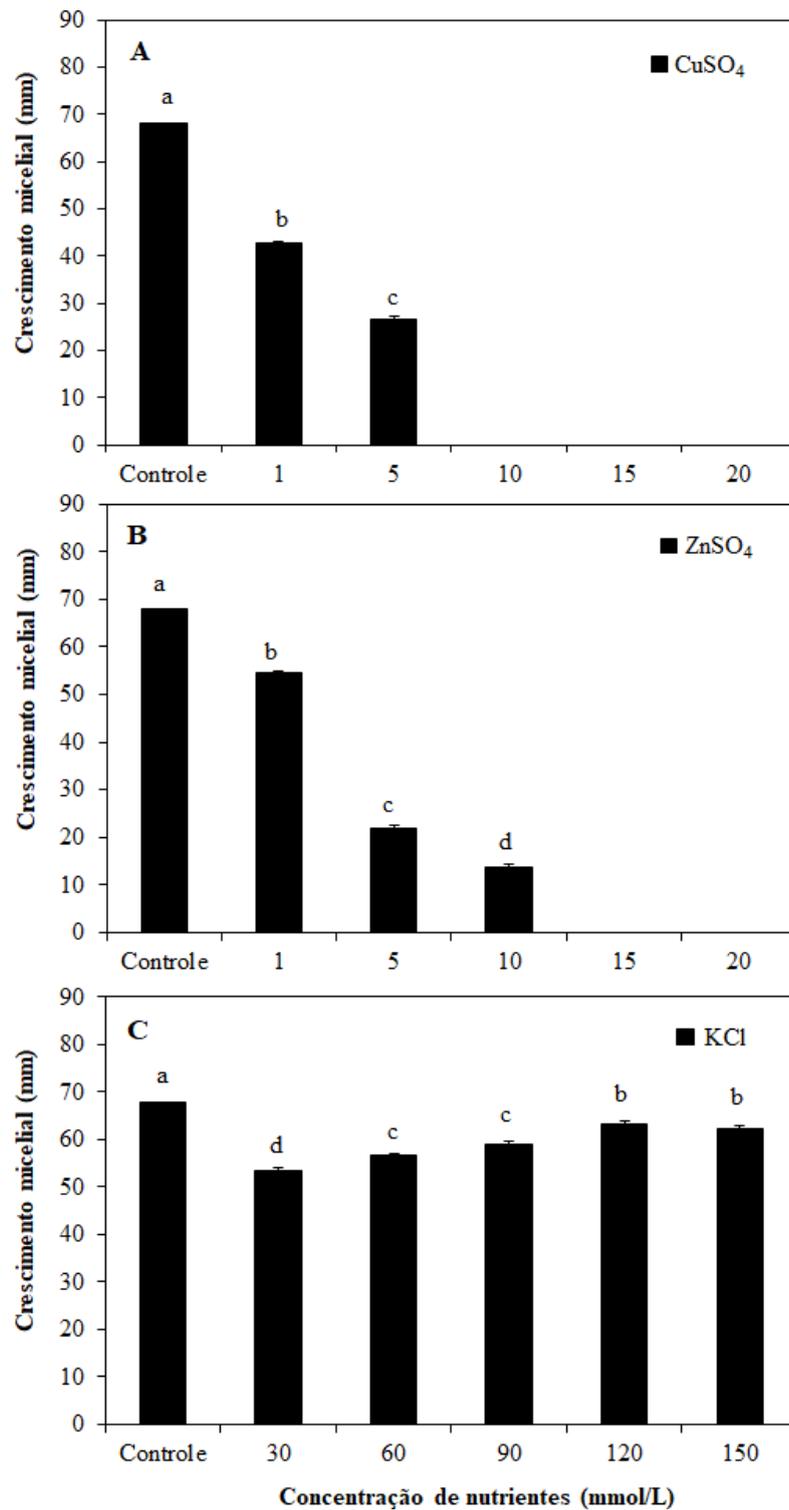


Figura 1- Atividade antifúngica de CuSO_4 (A), ZnSO_4 (B) e KCl (C) contra *F. solani* f. sp. *piperis* em BDA em diferentes concentrações de nutrientes. Dados são mostrados como valores médios. Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente à 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$). Barras representam o erro padrão da média.

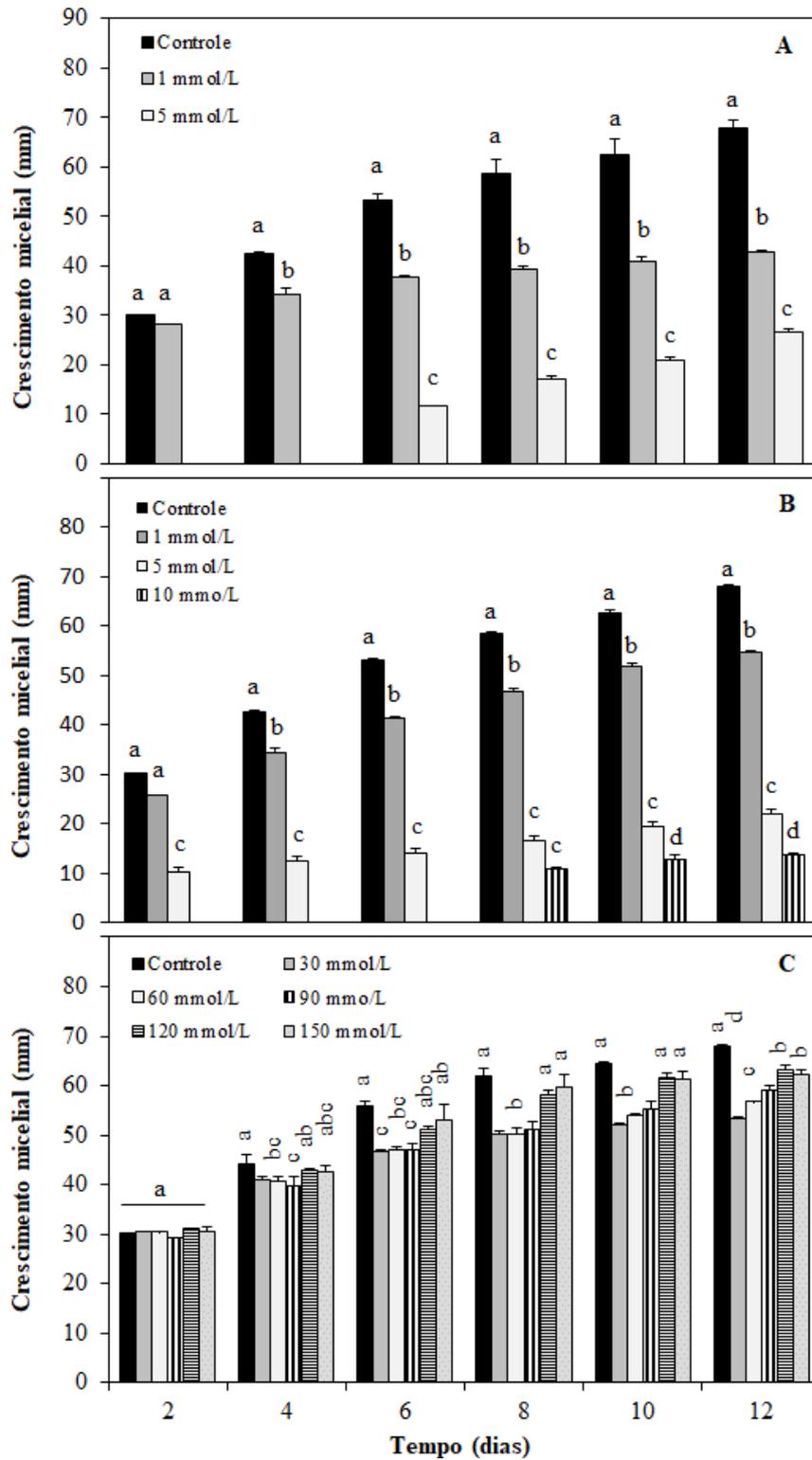


Figura 2- Efeito de CuSO₄ (A), ZnSO₄ (B) e KCl (C) no crescimento mycelial de *F. solani* f. sp. *piperis*, 12 dias após a inoculação. Controle: BDA. Dados são mostrados como valores médios. Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente à 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$). Barras representam o erro padrão da média.

Tabela 1- Porcentagem de inibição de crescimento (P.I.) de *F. solani* f. sp. *piperis* cultivado em CuSO_4 , ZnSO_4 e KCl .

Tempo (dias)	P.I. (%)					
	2	4	6	8	10	12
CuSO_4 mmol/L						
Controle	0	0	0	0	0	0
1	12.0	19.4	29.4	33.0	34.5	37.2
5	100	100	77.8	70.7	66.4	61.0
10	100	100	100	100	100	100
15	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100
ZnSO_4 mmol/L						
Controle	0	0	0	0	0	0
1	14.4	18.8	22.0	20.3	17.0	19.8
5	65.7	70.4	73.6	71.5	68.9	67.7
10	100	100	89.9	81.5	79.5	79.9
15	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100
KCl mmol/L						
Controle	0	0	0	0	0	0
30	-0.9	7.1	16.6	18.7	19.2	21.4
60	-3.8	8.0	15.6	18.8	16.2	16.5
90	2.8	9.8	15.8	17.4	14.0	13.3
120	-3.0	2.7	8.2	6.1	4.4	7.0
150	-1.4	3.7	4.8	3.8	5.0	8.3

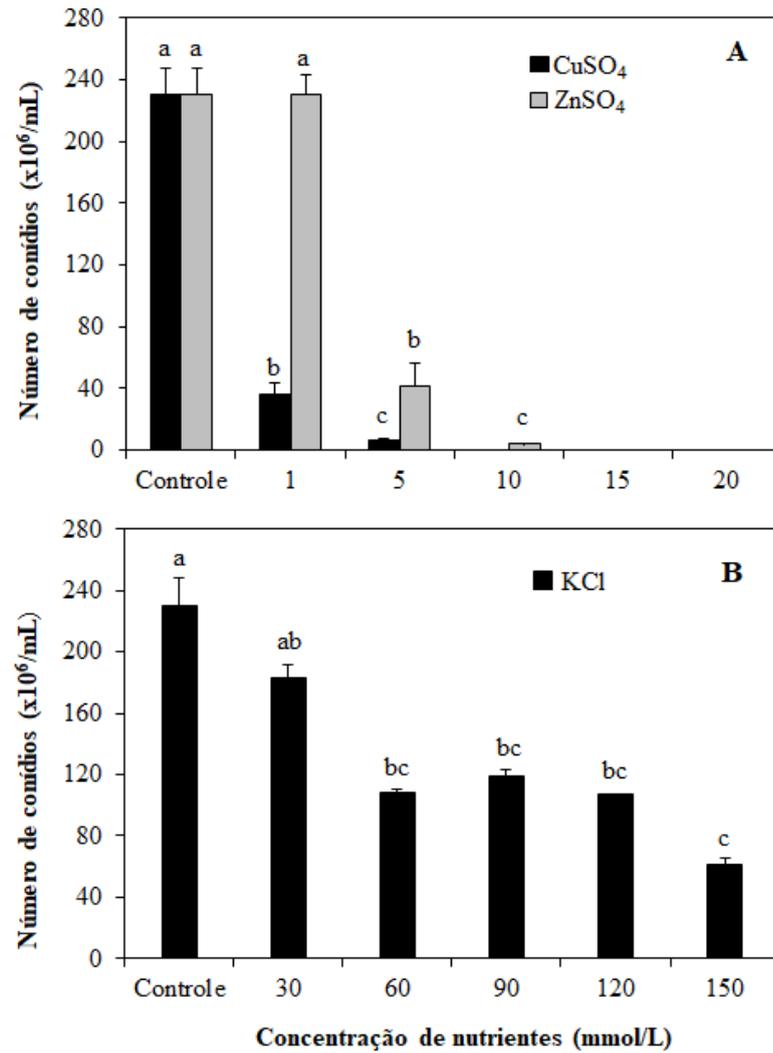


Figura 3- Germinação de conídios de *F. solani* f. sp. *piperis* em CuSO₄, ZnSO₄ (A) e KCl (B) em diferentes concentrações de nutrientes. Dados são mostrados como valores médios. Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si estatisticamente à 5% de probabilidade pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$). Barras representam o erro padrão da média.

Tabela 2- Redução no número de conídios de *F. solani* f. sp. *piperis* cultivado em CuSO₄, ZnSO₄ e KCl.

Redução no número de conídios (%)	
mmol/L	
	CuSO₄
1	84.2
5	97.2
10	100.0
15	100.0
20	100.0
	ZnSO₄
1	0.0
5	82.2
10	98.4
15	100.0
20	100.0
	KCl
30	20.6
60	52.9
90	48.3
120	53.6
150	73.5

DISCUSSÃO

A natureza generalizada e persistente de *Fusarium* spp. talvez seja devido à sua capacidade de se manter e multiplicar em uma grande variedade de carboidratos complexos e proteínas, resistindo assim, a climas adversos e a níveis elevados de substâncias tóxicas, como muitos antibióticos e fungicidas. *Fusarium solani* parece incorporar alguns dos membros mais difíceis do gênero (Smith, 2007).

A inibição do crescimento micelial de *F. solani* f. sp. *piperis* in vitro revelou significativas variações na sensibilidade do fungo a diferentes nutrientes testados. No presente estudo, CuSO_4 , ZnSO_4 foram mais efetivos na inibição do crescimento fúngico, enquanto KCl mostrou efeito relativamente fraco comparando-o aos outros nutrientes. Entretanto, observou-se que o Cu foi o composto que apresentou melhor resultado contra o crescimento micelial e germinação de conídios de *F. solani*, exibindo significativa inibição em concentrações relativamente baixas do composto.

De acordo com Resende et al. (2008) e Melo et al. (2016), compostos de cobre, zinco e potássio são utilizados para o controle de microrganismos. Eles podem ter efeito diretamente sobre o patógeno (efeito fungicida ou fungistático) ou ativar a defesa natural das plantas, resultando em uma resistência induzida (Spolti et al., 2015; Costa et al., 2017).

O cobre é usado atualmente devido às suas propriedades antifúngicas. Em particular, o Cu é responsável pela interferência nos processos homeostáticos e funções da membrana celular, danos à síntese de proteínas, produção de espécies reativas de oxigênio e ruptura do DNA (Krumova et al., 2009; Rai et al. (2018). De acordo com Civardi et al. (2015), Cu exerceu efeito tóxico a célula fúngica de *Rhodonía placenta* pela quebra de diferentes processos metabólicos básicos. Significativa atividade antifúngica de Cu tem sido revelada em um número de espécies patogênicas incluindo *Fusarium* sp., *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Phoma destructiva* (Pandey et al., 2018; Nematí et al., 2015; Aleksandrowicz-Trzcinska et al., 2018).

Em relação ao Zn, vários estudos mostraram sua atividade antibacteriana (Yamamoto, 2001; Stoimenov et al., 2002; Zhang et al., 2007; Liu et al., 2009). Entretanto, existem poucos estudos que relatam o mecanismo sugerido para a atividade antifúngica de compostos de Zn (Sawai e Yoshikawa, 2004; He et al., 2011).

Alguns autores sugerem que tal mecanismo pode estar baseado na formação de espécies reativas de oxigênio, as quais rompem com a integridade da membrana celular, impedindo o crescimento do patógeno (Feng et al., 2000; Applerot et al., 2009; Liu et al., 2009; He et al., 2011). De acordo com He et al. (2011), Król et al. (2017) e Ashajyothi et al. (2016), compostos de Zn apresentaram potencial fungistático contra *Fusarium* sp., *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer*. Chand et al. (2016), observaram que entre os micronutrientes testados, o Zn foi o que apresentou maior inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

O efeito tóxico acentuado de Cu e Zn contra esporos fúngicos comparado ao crescimento micelial pode ser atribuído às diferenças estruturais entre a parede do esporo e da fase vegetativa do fungo. De acordo com Bartnicki-Garcia (1968), o teor de quitina de muitas espécies fúngicas é significativamente maior na parede das hifas, em comparação com a parede dos esporos, tornando o último mais suscetível a alguns compostos. Além disso, durante o processo de germinação de esporos, a presença de enzimas como dissulfeto redutase e glucanases resultam no enfraquecimento da parede celular, facilitando o alongamento do tubo germinativo e, conseqüentemente, criando sítios de maior sensibilidade à substâncias tóxicas em contato com a célula fúngica. Em geral, a germinação de conídios pode refletir a capacidade de reprodução e o desenvolvimento dos fungos. Savi et al. (2013), sugerem que o efeito dos compostos de Zn sobre o crescimento de fungos pode estar relacionado à sua propriedade, alterando a capacidade de reprodução, em termos de viabilidade de conídios. Malandrakis et al. (2019), estudando o efeito de cobre e zinco sobre vários microrganismos, verificaram que Cu foi efetivo contra *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Monilia fructicola*, *Verticillium dahliae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* e *Fusarium solani* enquanto Zn exerceu efeito fungicida contra *M. fructicola*, *F. solani* e *V. dahliae*.

Embora o K não tenha exercido inibição ou redução do crescimento micelial e produção de esporos de *F. solani*, há na literatura relatos que o potássio atua como indutor de resistência às doenças de plantas (Holzmueller et al., 2007, Zorb et al., 2014, Gao et al., 2018). A utilização de K como fertilizante de plantas pode diminuir a incidência de doenças fúngicas e bacterianas, bem como de insetos (Amtmann et al., 2008), principalmente devido à alterações no metabolismo primário e respostas hormonais da planta (Wang et al., 2013, Zorb et al., 2014). Dordas (2008), observaram

que a aplicação de KCl na folhagem pode impedir o ataque de oídio em trigo.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho fornecem evidências de que cobre e zinco exibiram atividade antifúngica benéfica contra *F. solani* f. sp. *piperis* em condições de laboratório. Por outro lado, nenhuma concentração de potássio foi ativa contra o fungo. Alta atividade antifúngica foi observada em baixas concentrações de cobre e zinco, favorecendo o uso desses compostos. Avaliações científicas estão sendo realizadas em campo para verificar o desempenho desses nutrientes como inibidores de crescimento de *Fusarium*.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. (1988) **Plant Pathology**. 3rd Edition, Academic Press, Inc., New York.
- ALBUQUERQUE, F. C. et al. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococca* f.sp. *piperis*. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 31, n. 3, p. 341-348, 2001.
- ALEKSANDROWICZ-TRZCINSKA,M., SZANIAWSKI, A., OLCHOWIK, J., DROZDOWSKI, S., 2018. Effects of copper and silver nanoparticles on growth of selected species of pathogenic and wood-decay fungi in vitro. **For. Chron.** 94 (2), 109–116.
- AMTMANN A, TROUFFLARD S, ARMENGAUD P (2008) The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. **Physiologia Plantarum** 133: 682–691
- APPLEROT, G., LIPOVSKY, A., DROR, R. ET AL. (2009). Enhanced antibacterial activity of nanocrystalline ZnO due to increased ROS mediated cell injury. **Advanced Functional Materials**, 19, 842–852.
- ARAVIND P, PRASAD MNV (2004) Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L., a fresh water macrophyte. **Plant Sci** 166:1321–1327
- ASHAJYOTHI, C., PRABHURAJESHWAR, C., HANDRAL, H.K., KELMANI, C.R., 2016. Investigation of antifungal and anti-mycelium activities using biogenic nanoparticles: an eco-friendly approach. **Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.** 5, 81–87.
- BARBIERI, R.L.; CARVALHO, F.I.F. Coevolução de Plantas e Fungos Patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, n.2, p.79-83, 2001
- BARTNICKI-GARCIA, SALOMON, 1968. Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. **Annu. Rev. Microbiol.** 22, 87–108.
- BLOOM, A.J. Nutrição mineral. In: TAIZ , L; ZEIGER, E. (Ed.) **Fisiologia Vegetal**. 3 ed, 2004. P. 96-103.
- BORGES-PEREZ, A.; FERNÁNDEZ-FALCÓN, M.; BRAVORODRIGUES, J. J.; PÉREZ-FRANCES, J. F.; LOPEZCARRENO, I. Enhanced of resistance of banana plants (*Dwarf Cavendish*) to *Fusarium oxysporium* f.sp.*cubense* by controlled Zn nutrition under field condition. **Banana News-letter**, [S.l.], v. 14, p. 24-26, 1991.
- BURDON, J.J.; SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, p. 664-669, 1997.
- CARVALHO,L.V.; CUNHA,L.R.; GUIMARÃES,G.T.P.; CARVALHO,F.P.J.; Influência do zinco na incidência de doenças do cafeeiro. **Ciênc. agrotec., Lavras**, v. 32, n. 3, p. 804-808, maio/jun, 2008.

CAKMAK I.M. (2000). POSSIBLE roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species, **New Phytol.** 146, 185–205.

CHAND G, U.S. JAISWAL US, MARU AK (2016) Effect of micronutrients on Panama wilt of banana (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*) and its synergistic action with *Trichoderma viride*. **Conference Proceedings of International Conference on Innovative Approaches in Applied Sciences and Technologies (iCiAsT-2016)** February 01-05, 2016.

CHESTER, K. S. The problem of acquired physiological immunity in plants. **Q. Rev. Biol.**, 8:275-324, 1933.

CIVARDI C, SCHWARZE FWMR, WICK P. (2015) Micronized copper wood preservatives: An efficiency and potential health risk assessment for copper-based nanoparticles. **Env Poll.**, 200:126–132.

COSTA, B. H. G.; RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; MATHIONI, S. M.; PÁDUA, M. A.; SILVA JÚNIOR, M. B. Suppression of rust and brown eye spot diseases on coffee by phosphites and by-products of coffee and citrus industries. **Journal of Phytopathology**, 162: 1 – 8. 2014.

CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

DELIOPOULUS, T.; KETTLEWELL, P.S.; HARE, M.C. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. **Crop Protection**, v.29, p.1059-1075, 2010.

DORDAS C. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**. 2008; 28: 33–46.

DUARTE, M.L.R.; ALBUQUERQUE, F.C.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Cap. 58 Doenças da Pimenteira-do-Reino (*Piper nigrum*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. et al. (Eds.) Manual de Fitopatologia. Vol. 2. 4a Edição. São Paulo: **Editora Agrônômica Ceres**, p.507-516, 2005.

DUTRA, I. **Produtividade e qualidade de frutos de melão pele de sapo em função de diferentes níveis de irrigação e adubações nitrogenadas e potássica**. 2005. 99f. Tese (Doutorado em Agronomia) -Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A. Growth and mineral nutrition of field crops. **New York: M. Dekker**, 1997. 624p.

FENG, Q.L., WU, J., CHEN, G.Q., CUI, F.Z., KIM, T.N. & KIM, J.O. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomedicine Materials Research**, 52, 662–668.

FODOR, J., A. JOZSA, e Z. KIRALY. 1998. Systemic acquired disease resistance in plants. **Novenyvedelem** 34:117-126.

GAO X, ZHANG S, ZHAO X, WU O (2018) Potassium-induced plant resistance against soybean cyst nematode via root exudation of phenolic acids and plant pathogen-

related genes. **PLoS ONE** 13(7): 1-13

GAÜMANN, E. 1946. **Pflanzliche Infektionslehre. Basel: Birkhäuser.**

GRAHAM, R.D. Effect of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. **Adv. Bot. res.**, v. 10, p. 221-276,1983.

GRAHAM, R.D. AND WEBB, M.J. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. Pp 329370. In J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Schuman, and R.M. Welch (eds.). Micronutrients in Agriculture, **Second Edition, Soil Sci. Soc. America, Madison, WI.**

GRAHAM D.R. (1983) Effects of nutrients stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements, **Adv. Bot. Res.** 10, 221–276.

GREWAL H.S., GRAHAM R.D., RENGEL Z. (1996) Genotypic variation in zinc efficiency and resistance to crown rot disease (*Fusarium graminearum* Schw. Group 1) in wheat, **Plant Soil** 186, 219–226.

GUO, Z., CHEN, R., XING, R., LIU, S., YU, H., WANG, P., ET AL. (2006). Novel derivatives of chitosan and their antifungal activities in vitro. **Carbohydrate Research**, 341, 351–354.

HE, L., LIU, Y., MUSTAPHA, A., LIN, M., 2011. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiol. Res.** 166 (3), 207–215.

HENNEQUIN, C.; ABACHIN, E.; SYMOENS, F.; LAVARDE, V.; REBOUX, G.; NOLARD, N.; BERCHE, P. Identification of *Fusarium* species involved in human infections by 28S rRNA gene sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 11, p. 3586-3589, 1999.

HOLZMUELLER EJ, JOSE S, JENKINS MA. Influence of calcium, potassium, and magnesium on *Cornus florida* L. density and resistance to dogwood anthracnose. **Plant and Soil.** 2007; 290:189–199.

HUBER, D. M. The use of fertilizer and organic amendments in control of plant disease. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Handbook of pest management in agriculture.** Boca Raton: CRC, 1981. v. 1, p. 357-394.

HUBER, D. M.; WATSON, R. D. Nitrogen form and plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, p. 139-165, 1974.

HUSSAIN I, SINGH NB, SINGH A, SINGH H, SINGH SC (2016) Green synthesis of nanoparticles and its potential application. **Biotechnol Lett** 38(4):545–560

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants.** Boca Raton: CRC, 1984. 315 p.

KAH, M., KOOKANA, R.S., GOGOS, A., BUCHELI, T.D., 2018. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. **Nat. Nanotechnol.** 13 (8), 677–684.

KELLER, A.A., ADELEYE, A.S., CONWAY, J.R., ET AL., 2017. Comparative environmental fate and toxicity of copper nanomaterials. **NanoImpact** 7, 28–40.

KRÓL, A., POMASTOWSKI, P., RAFIŃSKA, K., RAILEAN-PLUGARU, V., BUSZEWSKI, B., 2017. Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. **Adv. Colloid Interf. Sci.** 249, 37–52.

KRUMOVA EZ, PASHOVA SB, DOLASHKA-ANGELOVA PA, STEFANOVA T, ANGELOVA MB. Biomarkers of oxidative stress in the fungal strain *Humicola lutea* under copper exposure. **Process Biochem.** 2009 Mar; 44 (3): 288–295.

LAURENZI, MTIPING, A.J.; MARCUS, S.E.; KNOX, J.P.; FEDERICO, R.; ANGELINE, R.; Mc PHERSON, M.J. Analysis of the distribution of copper amine oxidase in cell walls of legume seedlings. **Planta**, v. 21, p37-45, 2002.

LEAL, P. C.; CANTANHEDE, K. L.; SILVA, L. M.; BEZERRA, G. F. B.; VIANA, G. M. C.; NASCIMENTO, M. D. S. B. Micotoxinas do *Fusarium* e seu potencial carcinogênico. **Revista Newslab**, v. 70, 2005

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 (Documentos 375).

LONERAGAN, J. F. The availability and absorption of trace elements in soilplant systems and their relation to movement and concentration of trace elements in plants. In: NICHOLAS, D. J. D.; EGAN, A.R. (ed.). **Trace elements in soilplant-animal systems**. London: Academic Press, 1975. p. 109-134

LIU, Y., HE, L., MUSTAPHA, A., LI, H., HU, Z.Q. & LIN, M. (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Applied Microbiology**, 107, 1193–1201.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Editora Ceres, 2006. 443 p.

MALANDRAKIS AA, KAVROULAKIS N, CHRYSIKOPOULOS CV (2019) Use of copper, silver and zinc nanoparticles against foliar and soil-borne plant pathogens. **Science of the Total Environment** 670: 292–299

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2.ed. San Diego: Academic, 1995. 902p.

MAHMUD, R. *et al.* Assessment of potential indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated areas of Bangladesh. **International Journal Phytoremediation**, Texas, v.10, p.119-132, 2008.

MAYER, A.M.; STAPLES, R.C. Laccase: New functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, v.60, p 551-565, 2002.

MELO, E. E. C. *et al.* Accumulation of arsenic and nutrients by castor bean plants grown on an As-enriched nutrient solution. **Journal of Hazardous Materials**, v.168,.

479-483, 2009.

MELO, L. G. D. L. et al. (2016) Indutores de resistência abióticos no controle da fusariose do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 51, n. 10, p. 1703-1709

MENGEL K., KIRKBY E.A. (2001) Principles of Plant Nutrition, 5th ed., Kluwer **Academic Publishers, Amsterdam, Netherlands**, p. 847

MENGEL, K. Principles of Plant Nutrition, 5th ed.; Kluwer **Academic Publishers: Dordrecht, the Netherlands**, 2001; pp. 481–509.

MENEGUIM, L.; RINALDI, D. A. M. F.; SANTOS, A. C. A.; RODRIGUES, L. S.; SILVA, M. R. L.; CANTERI, M. G.; LEITE JUNIOR, R. P. Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. citri ao cobre e mancozeb. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 247-252, june. 2007.

NEMATI, A., SHADPOUR, S., KHALAFBEYGI, H., ASHRAF, S., BARKHI, M., SOUDI, M.R., 2015. Efficiency of hydrothermal synthesis of nano/microsized copper and study on in vitro antifungal activity. **Mater. Manuf. Process.** 30 (1), 63–69.

OKU, H. 1994. Plant pathogenesis and disease control. Boca Raton: Lewis Publishers.

EMBRAPA - *Centro Nacional de Pesquisa de Solos*. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 4a aproximação. Rio de Janeiro, 169p, 1999.

PANDEY, S., GIRI, K., KUMAR, R., MISHRA, G., RAJA RISHI, R., 2018. Nanopesticides: opportunities in crop protection and associated environmental risks. **Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci.** 88 (4), 1287–1308

PRASAD, D.; SINGH, R.; SINGH, A. Management of sheath blight of rice with integrated nutrients. **Indian Phytopathol.** 2010, 63, 11–15.

PERRENOUD S (ED) (1990) Potassium and Plant Health, Vol. 3. **International Potash Institute, Basel**.

RAI M, INGLE PA, PANDIT R, PARALIKAR P, SHENDE S, GUPTA I, BISWAS JK, SILVA SS (2018) Copper and copper nanoparticles: role in management of insect-pests and pathogenic microbes. **Nanotechnol Rev.** 1-14

RAIJ, VAN B. Potássio: necessidade e uso na agricultura moderna. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, **1990. 45p.**

RAWAT N., PUMPHREY M.O., LI S., ZHANG X., TIVARI V.K., ANDO K., TRICK H.N., BOCKUS W.W., AKHUNOV E., ANDERSON J.A., GILL B.S. (2016): Wheat Fhb1 encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to Fusarium head blight. **Nature Genetics**, 48: 1576–1580.

RESENDE, M. L. V. ET AL. (Org.). Indução de resistência na cafeicultura: perspectivas de uso. In: BLUN, Luiz Eduardo Bassay et al. **Manejo fitossanitário da cultura do cafeeiro**. Lavras: Ufla,. p. 25-35, 2008.

ROUT GR, DAS P (2003) Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism. **Agronomie** 23:3–11

RÖMHELD V., MARSCHNER H. (1991) Function of micronutrients in plants, in: Mortvedt J.J., Cox F.R., Shuman L.M., Welch R.M. (Eds.), *Micronutrients in Agriculture*. **Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA**, pp. 297–328.

SANTOS, H.A. ***Trichoderma* spp. como promotores de crescimento em plantas e como antagonistas a *Fusarium oxysporum***. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília. Brasília-DF, 2008.

SARWAR, M. Effects of potassium fertilization on population build up of rice stem borers (Lepidopteron pests) and rice (*Oryza sativa* L.) yield. **J. Cereals Oilseeds** 2012, 3, 6–9.

SAVI, G.D., VITORINO, V., BORTOLUZZI, A.J., SCUSSEL, V.M., 2013A. Effect of zinc compounds on *Fusarium verticillioides* growth, hyphae alterations, conidia, and fumonisin production. **J. Sci. Food Agric.** 93, 3395–3402.

SAWAI J, YOSHIKAWA T (2004) Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. **Journal of Applied Microbiology** 96(4):803-9

SHARMA S., DUVEILLER E., BASNET R., KARKI C.B., SHARMA R.C. (2005) Effect of potash fertilization on helminthosporium leaf blight severity in wheat, and associated increases in grain yield and kernel weight, **Field Crop Res.** 93, 142–150.

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.

SMITH, S. N. (2007). An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. **Plant Pathology Bulletin**, 16, 97–120.

SPOLTI, P.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; CAMPOS, A.D.; DEL PONTE, E.M. Modo de ação de fosfitos de potássio no controle da podridão olho de boi em maçã. **Summa Phytopathologica**, v.41, p.42-48, 2015

STOIMENOV, P.K., KLINGER, R.L., Marchin, G.L. & Klabunde, J.S. (2002). Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. **Langmuir**, 18, 6679–6686.

SUN, Q., LI, J., LE, T., 2018. Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspectives. **J. Agric. Food Chem.** 66 (43), 11209–11220.

SUTTON JC. Strategies for biological control of necrotrophic pathogens in perennial crops. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.235-238, 2000.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B. AND MÉTRAUX, J.P. (1997) “Systemic Acquired Resistance”. In *Annu.Rev. Phytopathol.* 35, pp. 235-70; **Annual Reviews Inc.**

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia do estresse. In: **Taiz, L.; Zeiger, E. Fisiologia vegetal. Artmed:** Califórnia, 2004. 719p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. São Paulo, 2013.

TOKESHI, H. Doenças e pragas agrícolas geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.264-271, 2000.

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. Vol 2. 3a Edição**. São Paulo. Editora Agronômica Ceres, 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.

VENTURA, J. A.; MILANEZ, D. Fusariose da pimenta-do-reino e seu controle. Cariacica: **Encapa**, 1983. 20p.

XIAOHAI, L. *et al.* Accumulation of Pb,Cu and Zn in native plants growing on contaminated sites and their potential accumulation capacity in Heqing, Yunnan. **Journal of Environmental Science**, v. 20, p. 1469-1474, 2008.

WANG M, ZHENG Q, SHEN Q, GUO S (2013) The critical role of potassium in plant stress response. **Int J Mol Sci** 14:7370–7390.

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.

YAMAMOTO, O. (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. **International Journal of Inorganic Materials**, 3, 643–646.

ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F. A.; CAPUCHO, A. S. Resistência a doenças de plantas induzida pela nutrição mineral. In: VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Epamig/CTZM, 2005.

ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F. A.; CAPUCHO, A. S. Resistência a doenças de plantas induzida pela nutrição mineral. In: Controle alternativo de pragas e doenças. VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). Viçosa: **Epamig/CTZM**, 2005.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA A.J.; ZANÃO L.A.; **Efeito da Nutrição Mineral no Controle De Doenças de Plantas**, 1. ed Viçosa, MG, Editora Independente, 321p, 2012.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA A.J.; ZANÃO L.A. Efeito da Nutrição Mineral no Controle De Doenças de Plantas, 1. ed. Viçosa, MG, **Editora Independente**, 321p, 2012

ZHANG, L., JIANG, Y., DING, Y., POVEY, M. & YORK, D. (2007). Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). **Journal of Nanoparticles Research**, 9, 479–489.

ZORB C, SENBAYRAM M, PEITER E. Potassium in agriculture—status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**. 2014; 171: 656–669