



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

Controle alternativo da murcha bacteriana do pimentão utilizando óleos essenciais vegetais e silicato de cálcio

Aldenir de Oliveira Alves

**Recife – PE
2012**

ALDENIR DE OLIVEIRA ALVES

**Controle alternativo da murcha
bacteriana do pimentão utilizando óleos
essenciais vegetais e silicato de cálcio**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutora em Fitopatologia.

**Recife – PE
2012**

**Controle alternativo da murcha bacteriana do pimentão
utilizando óleos essenciais vegetais e silicato de cálcio**

ALDENIR DE OLIVEIRA ALVES

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Prof^a Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano

Prof^a Dra. Elineide Barbosa de Souza

**Recife – PE
2012**

Ficha Catalográfica

A474c Alves, Aldenir de Oliveira
Controle alternativo da murcha bacteriana do pimentão
utilizando óleos essenciais vegetais e silicato de cálcio / Aldenir
de Oliveira Alves. -- Recife, 2012.
94 f. : il.

Orientador (a): Rosa de Lima Ramos Mariano.
Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
Recife, 2012.
Referência.

1. *Ralstonia solanacearum* 2. *Capsicum annuum*
3. Biofumigação 4. *Cymbopogon martini* 5. Silicato de Cálcio
I. Mariano, Rosa de Lima Ramos, Orientadora II. Título

CDD 632

**CONTROLE ALTERNATIVO DA MURCHA BACTERIANA DO
PIMENTÃO UTILIZANDO ÓLEOS ESSENCIAIS VEGETAIS
E SILICATO DE CÁLCIO**

ALDENIR DE OLIVEIRA ALVES

Tese apresentada e aprovada pela Banca Examinadora em 17 de julho de 2012.

ORIENTADORA:

Prof^a Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano

EXAMINADORES:

Dra. Márcia Vanusa da Silva

PPG em Biotecnologia Industrial – Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Domingos Eduardo Guimarães Tavares de Andrade

Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA

Prof. Dr. Delson Laranjeira

PPGF – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Dr. Adriano Márcio Freire Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

RECIFE – PE

Julho, 2012

*Deus mais uma vez segura em minha mão
Minha alma aflita pede tua atenção
Cheguei no nível mais difícil até aqui
Me ajude a concluir.*

*Quando penso que estou forte, fraco eu estou
Mas quando reconheço que sem Ti eu nada sou
Alcanço os lugares impossíveis, me torno um vencedor!*

Bruna Karla

Aos meus pais, José Sebastião e Ivone Oliveira, e meus irmãos, pelo amor incondicional e incentivo em todos os momentos de minha vida.

DEDICO

Aos meus familiares e amigos pelo apoio e carinho. Ao meu amado esposo, Washington Alves, presente em todos os momentos dessa jornada.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo presente da vida e imensurável amor, por todas as maravilhas diárias, sustento, direção e força que me concede todos os dias.

Aos meus pais e irmãos, meus eternos estagiários, que sempre me ajudaram, e confiaram em todos os meus passos. Eles que são e sempre serão parte das minhas vitórias.

Ao meu esposo pelo amor incondicional, por todo amor, compreensão e paciência ao longo de todas nossas jornadas e desafios.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela formação oferecida em toda minha formação acadêmica, por todo acolhimento, serviços prestados e estrutura cedida para estudos, pesquisas e demais atividades.

À Profa. Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano e Elineide Barbosa de Souza, pelos valiosos ensinamentos, pelo apoio, paciência, dedicação e amizade.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo apoio financeiro fornecido desde a iniciação científica.

A todos do Laboratório de Fitobacteriologia (LAFIBAC), Mirtis Midiam, Tássia Camila, Liliana Santos, Luydson Jamyson, Ivanise Viana, Myrzânia Guerra, Greecy Mirian, Christtianno Rollemberg, Kátia Félix, Marco Aurélio, Adriano Márcio, Willams Oliveira, Edilaine Melo, Luciana Omega, Marcos Araújo, Conrado Queiroz, Claudeana Souza e Alexandre Xavier, pelos momentos maravilhosos de alegria, de companheirismo e ensinamentos nas horas difíceis, pois cada um me ensinou e me fez uma pessoa melhor a cada dia.

Aos que passaram pelo laboratório e fizeram parte da minha jornada: Alessandra Garcia, Simone Lima, André Xavier, Janaína Cortez, Kirley Michelly, Cléidio Cabral, Thiago Araújo, Adenilda Ribeiro Rosana Sampaio, Waléria Guerreiro e Marcelo Mello, pelos incontáveis momentos de alegria e lembranças, e pela amizade que levarei comigo pra sempre.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, Darci, Romildo Angeiras e Adriana, pela amizade e presteza ao longo do curso. A Luíz Coelho (Lula) e Seu Luíz por toda ajuda na realização dos trabalhos executados em casa de vegetação.

Ao Prof. Dimas Menezes e a Roberto de Albuquerque, pelo apoio nos trabalhos realizados na Horta Experimental do Departamento de Agronomia. Ao Ronaldo Alves e Wellington pela inestimável cooperação para realização dos trabalhos de análises enzimáticas.

Aos amigos que fiz no Departamento de Fitossanidade, pela parceria, disponibilidade, por todos os momentos bons e inesquecíveis vividos.

Aos demais amigos e familiares pelo apoio e confiança. Enfim, a todos que de uma forma ou de outra participaram da minha história, e estarão eternamente guardados em meu coração.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	vii
SUMÁRIO.....	ix
RESUMO GERAL.....	11
GENERAL ABSTRACT.....	13
CAPÍTULO I.....	15
INTRODUÇÃO.....	16
A Cultura do Pimentão.....	16
Murcha bacteriana do pimentão.....	17
Características do patógeno.....	20
Controle da murcha bacteriana do pimentão.....	23
Controle alternativo de doenças.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
CAPÍTULO II.....	40
BIOFUMIGAÇÃO COM ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA MURCHA BACTERIANA DO PIMENTÃO.....	41
INTRODUÇÃO.....	42
MATERIAL E MÉTODOS.....	44
Óleos essenciais.....	44
Infestação do solo.....	44
Biofumigação do solo com óleos essenciais em casa de vegetação.....	45
Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão em casa de vegetação.....	45
Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão em campo.....	46
Efeito dos óleos essenciais nas características químicas do solo.....	47
Sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Ralstonia solanacearum</i> aos óleos essenciais.....	47
Análise estatística.....	48
RESULTADOS	48
Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão em casa de vegetação.....	48
Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do	

pimentão em campo.....	48
Efeito dos óleos essenciais nas características químicas do solo.....	49
Sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Ralstonia solanacearum</i> aos óleos essenciais.....	50
DISCUSSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	54
CAPÍTULO II.....	64
REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA BACTERIANA DO PIMENTÃO MEDIADA POR SILÍCIO.....	65
INTRODUÇÃO.....	66
MATERIAL E MÉTODOS.....	68
Incorporação de silício ao substrato.....	68
Cultivo das plantas.....	68
Infestação do solo e transplântio.....	69
Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão.....	69
Efeito do silício sobre o desenvolvimento do pimentão.....	70
Análise do tecido vegetal para cálcio, magnésio e silício.....	70
Atividade enzimática.....	70
Efeito do silício sobre as características químicas do substrato.....	71
Inibição <i>in vitro</i> de <i>Ralstonia solanacearum</i>	72
Análises estatísticas.....	72
RESULTADOS.....	73
Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão.....	73
Efeito do silício sobre o desenvolvimento do pimentão.....	73
Análise do tecido vegetal para cálcio, magnésio e silício.....	73
Atividade enzimática.....	74
Efeito do silício sobre as características químicas do substrato.....	74
Inibição <i>in vitro</i> de <i>Ralstonia solanacearum</i>	74
DISCUSSÃO.....	74
REFERÊNCIAS.....	81
CONCLUSÕES GERAIS.....	92

RESUMO GERAL

A murcha bacteriana do pimentão, causada por *Ralstonia solanacearum* (*Rs*) raça 1, é uma fitobacteriose importante em Pernambuco e outros estados do Brasil. Este trabalho teve como objetivos testar o efeito de óleos vegetais e do silício (Si) no controle alternativo desta doença, seus efeitos diretos sobre *Rs* e verificar os possíveis mecanismos envolvidos nestes processos. Os óleos essenciais de bergamota, canela, capim limão, copaíba, eucalipto citriodora, eucalipto globulus, funcho, hortelã, laranja doce, limão, sálvia esclareaia e palmarosa foram avaliados por biofumigação. O solo foi previamente infestado com *Rs* CGM-8 (filotipo I, raça 1, biovar 3, biotipo 8) a 5×10^8 UFC ml⁻¹. Após sete dias, o solo foi biofumigado durante quatro dias com os doze óleos essenciais (0,14%; v:v) em casa de vegetação, e com os óleos de bergamota, laranja doce e palmarosa em campo. Foram avaliados: período de latência (PL₅₀), incidência, índice de murcha bacteriana (IMB) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD); desenvolvimento da planta; população de *Rs* no solo; características do solo; e crescimento de *Rs in vitro*. Os óleos de palmarosa, bergamota e laranja doce elevaram o PL₅₀ e reduziram IMB e AACPD em até 15, 60 e 64,4%, respectivamente, em casa de vegetação. Em campo, apenas o óleo de palmarosa aumentou o PL₅₀ (38%) e reduziu IMB (36%) e AACPD (38%), elevando o número de frutos por planta. Apenas em casa de vegetação, solos biofumigados com os óleos de bergamota e laranja doce apresentaram maiores níveis de sódio que os tratados com palmarosa e testemunha, que não diferiram entre si. *In vitro*, o crescimento de *Rs* foi reduzido pelo óleo de palmarosa. O Si foi testado em pimentão cv. Enterprise cultivado em substrato contendo 0,00; 0,25; 0,50; 1,50 e 3,00 g de SiO₂ kg⁻¹ de substrato e transplantado para solo infestado com *Rs* CGM-8, avaliando-se: PL₅₀, incidência, IMB, AACPD; biomassa; acúmulo de Ca⁺², Mg⁺² e Si; proteínas totais e atividade enzimática; características químicas do substrato e crescimento bacteriano *in vitro*. A dose 3,00 de Si aumentou o PL₅₀ (34%) e reduziu IMB (63%) e AACPD (47,4%), aumentando ainda Ca⁺² na parte área e reduzindo Mg⁺² na parte aérea e raízes. A suplementação com diferentes doses de Si proporcionou incrementos máximos na biomassa fresca da parte área (121,8%), biomassa fresca da raiz (83,6%) e biomassa seca da parte aérea (84,9%); elevou proteínas totais, catalase, ascorbato peroxidase e quitinase; proporcionou acúmulo de Si na parte aérea e substrato; aumentou pH, Na⁺ e K⁺; e diminuiu P no substrato. Os prováveis mecanismos de ação do Si foram ação direta sobre a colonização do patógeno, ação indireta no

desenvolvimento da planta, aumento na absorção de Ca^{+2} e sinalização para produção de enzimas de defesa da planta. Conclui-se que a biofumigação com o óleo essencial de palmarosa e a produção de mudas de pimentão em substrato contendo silicato de cálcio são práticas com potencial para o manejo alternativo da murcha bacteriana do pimentão.

Palavras-chave: *Ralstonia solanacearum*, *Capsicum annuum*, biofumigação, *Cymbopogon martini*, silicato de cálcio

GENERAL ABSTRACT

The bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (*Rs*) race 1, is an important bacterial disease in Pernambuco and other states of Brazil. This study aimed to evaluate the effectiveness of essential oils and silicon (Si) on alternative disease control, their effects on *Rs*, and verify the putative mechanisms involved in these processes. The oils of bergamot, copal, fennel, peppermint, sweet orange, lemon, cinnamon, lemon grass, eucalyptus citriodora, eucalyptus globulus, clary sage, and palmarosa were evaluated by biofumigation. Soil was previously infested with *Rs* (filotype I, race 1, biovar 3, biotype 8) at 5×10^8 CFU ml⁻¹ and after seven days biofumigated during four days with the twelve oils (0.14%, v:v) under greenhouse conditions, and with bergamot, sweet orange and palmarosa in field. It was evaluated: the latency period (PL₅₀), incidence, index of bacterial wilt (IBW) and area under the disease progress curve (AUDPC), plant development, *Rs* population in soil, soil characteristics, and *Rs* growth *in vitro*. The oils of palmarosa, bergamot and sweet orange elevated the PL₅₀ and reduced IBW and AUDPC up to 15, 60 and 64.4%, respectively in greenhouse. In the field only palmarosa elevated the PL₅₀ (38%), reduced the IMB (36%) and AUDPC (38%), and increased the number of fruits per plant. Only under greenhouse conditions soil biofumigated with oils of bergamot and sweet orange had higher sodium levels than those treated with palmarosa or control, which did not differ among them. *In vitro*, the growth of *Rs* was inhibited by the oil of palmarosa. To evaluate the effect of silicon (Si), sweet pepper plants cv. Enterprise were grown in compost containing 0.00, 0.25, 0.50, 1.50 and 3.00 g of SiO₂ kg⁻¹ of compost and transplanted into soil infested with isolate *Rs* CGM-8, being evaluated PL₅₀, incidence, IMB and AUDPC; fresh and dry weight of shoot and root biomass, accumulation of Ca⁺², Mg⁺² and Si, total protein and enzymatic activity; chemical characteristics of substrate, and *in vitro* growth. The dose 3.00 g of SiO₂ increased PL₅₀ (34%), reduced IMB (63%) and AUDPC (47.4%), increasing also Ca⁺² in shoots and reducing Mg⁺² in shoots and roots. Supplementation with different Si doses resulted in maximum increments of fresh weight of shoot (121.8%), fresh weight of root (83.6%), and dry weight of shoot (84.9%); increased total protein, catalase, ascorbate peroxidase, and quitinase. Si was accumulated in the shoots and compost; pH, Na⁺ and K⁺ were elevated and P was reduced in the compost. The putative mechanisms of action of Si on disease control were direct action on the pathogen colonization, indirect action on plant growth, increase of Ca⁺² absorption and signaling for producing

plant defense enzymes. In conclusion, biofumigation with palmarosa oil and transplant production in compost containing calcium silicate are potential alternative strategies for the control of bacterial wilt of sweet pepper.

Key words: *Ralstonia solanacearum*, *Capsicum annuum*, biofumigation, *Cymbopogon martini*, calcium silicate

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

CONTROLE ALTERNATIVO DA MURCHA BACTERIANA DO PIMENTÃO UTILIZANDO ÓLEOS ESSENCIAIS VEGETAIS E SILICATO DE CÁLCIO

INTRODUÇÃO GERAL

A Cultura do Pimentão

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) está entre as cinco hortaliças com maior área cultivada no mundo e o seu consumo vem crescendo também no Brasil (HALFELD-VIEIRA et al., 2005; HENZ et al., 2007). O cultivo dessa hortaliça é uma atividade significativa para o setor agrícola nacional, estando entre as dez mais importantes no mercado hortifrutigranjeiro (FILGUEIRA, 2000).

Em 2007, no Brasil, o pimentão foi cultivado em 800 mil hectares, que produziram aproximadamente 16 milhões de toneladas de frutos, gerando em torno de 2,4 milhões de empregos diretos (AGRIANUAL, 2008). Ainda em 2007, o Brasil exportou aproximadamente 6.364,6 toneladas de pimentas e pimentões, movimentando cerca de US\$ 20 milhões de dólares (MATOS, 2010). São Paulo, Minas Gerais e Ceará juntos produziram em 2006 cerca de 112 mil toneladas, enquanto que em 2011, apenas São Paulo comercializou 29.291 toneladas (AGRIANUAL, 2012). O estado de Pernambuco está em 8º lugar no ranking nacional de produção de pimentão (IBGE, 2006).

De acordo com o Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco (CEASA/PE, 2008), nos anos de 2004 a 2008, o Agreste foi o principal fornecedor de pimentão para a Região Metropolitana do Recife. Neste período, a quantidade de pimentão comercializado por mês na CEASA/PE atingiu 709 toneladas. Em Pernambuco, na região Agreste e Zona da Mata, onde a hortaliça é predominantemente cultivada por pequenos produtores desprovidos de modernos recursos tecnológicos, destacam-se os municípios de Camocim de São Félix, Bezerros, Gravatá, Brejo da Madre de Deus, São Joaquim do Monte, Sairé, Ibimirim, João Alfredo e Chã Grande, e na Paraíba, Boqueirão, Lagoa Seca e Alhandra (CEASA/PE, 2012).

O pimentão é geralmente produzido em campos abertos, mas tem se adaptado ao cultivo protegido. A utilização desta nova tecnologia associada à irrigação localizada tem promovido acréscimos de produtividade da cultura (MATOS, 2010) devido ao melhor controle nos tratamentos culturais, a extensão do tempo de colheita e safras melhores mesmo em condições ambientais adversas e em diferentes épocas, alcançando maiores preços no mercado (HENZ et al., 2007; SILVA et al., 1999). Apesar dessas novas tecnologias e da

crecente produção, as plantas de pimentão, estão sujeitas a problemas fitossanitários, tais como pragas e doenças, algumas com elevada intensidade, que afetam a qualidade dos frutos e causam grandes perdas à cultura. Na produção em campo, no Distrito Federal, no ano de 2007, os custos dos agroquímicos atingiram aproximadamente R\$ 1.871,20, o que somado à mão de obra de aplicação no valor de R\$ 375,00, resultou em R\$ 2.246,20 por hectare (EMATER/DF, 2007).

No ano de 2010, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) realizou coletas de amostras de dezoito produtos vegetais: abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr.), alface (*Lactuca sativa* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), cebola (*Allium cepa* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), couve (*Brassica oleracea* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), laranja (*Citrus sinensis* L.), maçã (*Malus domestica* Borkh), mamão (*Carica papaya* L.), manga (*Mangifera indica* L.), morango (*Fragaria vesca* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) e tomate (*Solanum lycopersicum* L.), baseando-se nos dados de consumo obtidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no censo agropecuário de 2006, na sua disponibilidade nos supermercados dos diferentes estados e no uso intensivo de agroquímicos nestas culturas. Em pimentão, das 146 amostras coletadas em todo o Brasil, 124 (84,9%) apresentaram defensivos agrícolas não autorizados para serem aplicados na cultura e 134 amostras (91,8%) apresentaram valores acima dos limites máximos autorizados quanto ao uso do agroquímico. Na Região Nordeste, das 51 amostras analisadas, 45 foram consideradas insatisfatórias, e em Pernambuco cinco de um total de seis amostras estavam contaminadas (ANVISA, 2011).

Murcha bacteriana do pimentão

A murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. (HAYWARD, 1991; LOPES; REISFSCHEIDER, 1999) foi inicialmente relatada por Erwin F. Smith nos Estados Unidos da América em 1896, colonizando as solanáceas batata (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e berinjela (*Solanum melongena* L.) (HAYWARD, 1994). No Brasil, os primeiros relatos datam de 1922, em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), e batata, no Rio Grande do Sul (TAKATSU; LOPES 1997). A doença tem grande importância mundial e já foi descrita em mais de 450 plantas hospedeiras, distribuídas em cerca de 54 famílias botânicas, destacando-se as solanáceas e musáceas, dentre outras (WICKER et al., 2007).

A murcha bacteriana é uma das doenças mais devastadoras, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, em áreas de clima úmido, com altitudes de baixa a média (HAYWARD, 1991). As perdas econômicas podem ser baixas (2%) ou atingir 100%, a exemplo do Sudeste Asiático (CABI, 2006). Estima-se que a soma de perdas em culturas susceptíveis como a batata, pimentão, tomate e berinjela pode chegar anualmente a US\$ 70 milhões (ERS, 2003).

Em 1940, a murcha bacteriana causou sérios problemas na Flórida, USA, em plantios de pimentão realizados após cultivos de batata. No entanto, atualmente, a doença não tem sido problema em pimentão no sudeste dos Estados Unidos, porque os isolados prevalentes de tomate e fumo não causam murcha nesta cultura (MOMOL; PRADHANANG; LOPES, 2008).

No Brasil, a murcha bacteriana do pimentão é de importância limitada na região Centro-Sul, mas tem grande incidência e severidade na região Amazônica e em áreas de baixa altitude na região Nordeste (TAKATSU; LOPES, 1997). Nos anos de 1998 e 2000, no Estado do Amazonas houve registros da doença em 25 municípios (COELHO NETTO et al., 2003). Em levantamento bibliográfico realizado em 2007, foram encontrados relatos da doença nos estados do Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Paraná, Rio de Janeiro, Roraima, Rondônia e São Paulo (BERIAM, 2007; MALAVOLTA JÚNIOR et al.; 2008).

Em Pernambuco, a murcha bacteriana em pimentão foi detectada formalmente em 1987 (MARIANO; CABRAL; SILVA, 1988; MARIANO et al., 1989). Atualmente, a doença causa prejuízos econômicos nos municípios produtores da região Agreste (Bezerros, Camocim de São Félix, Caruaru, Garanhuns e Sairé) e da Zona da Mata (Chã Grande). Nesses municípios, o estudo da diversidade genética de *R. solanacearum* revelou a predominância de isolados do filotipo I, biovar 3 e biotipo 8, embora também tenham sido encontrados o filotipo II, biovar 1, biotipos 3 e 6. Esses isolados fazem parte da raça 1, que afeta o maior número de espécies incluindo solanáceas e outras famílias, estando amplamente disseminada pelas principais áreas de produção vegetal em todas as regiões brasileiras (GARCIA, 2011; MARQUES et al., 1994).

Ralstonia solanacearum penetra nas plantas hospedeiras por ferimentos nas raízes, infecta o córtex radicular, invadindo os espaços intercelulares em menos de 4 horas; e após 2 a 3 dias, coloniza o parênquima vascular e os vasos xilemáticos (LIU et al., 2005; SAILE et al., 1997). A bactéria rapidamente se multiplica e se espalha pela parte aérea da planta através do sistema vascular, atingindo uma densidade populacional superior a 10^9 UFC g⁻¹ de haste

(TANS-KERSTEN; BROWN; ALLEN, 2004). Esse grande número de células bacterianas produz exopolissacarídeo (EPS) de alta viscosidade, considerado o principal fator de virulência, que obstrui parcial ou totalmente o xilema, reduzindo o transporte de água e, impedindo que alcance a parte aérea da planta. A planta também reage à colonização do patógeno formando tiloses, dificultando ainda mais a passagem de água, causando a murcha (GONZÁLEZ; ALLEN, 2003; HIKICHI et al., 2007). Além disso, observa-se um desequilíbrio hormonal de auxinas e etileno, reduzindo o hormônio de crescimento e formando raízes adventícias (BUDDENHAGEN; KELMAN, 1964).

O principal sintoma da doença em solanáceas é a murcha sem amarelecimento da parte aérea, cuja expressão varia de acordo com o hospedeiro, com o isolado bacteriano e com as condições ambientais (MOMOL; PRADHANANG; LOPES, 2008). Em pimentão, os sintomas da doença iniciam-se com a murcha rápida das plantas, começando pelas folhas mais novas, a princípio durante as horas mais quentes do dia (Figura 1A), e progredindo para as mais velhas, resultando na murcha permanente e até na morte da planta, sem alteração na coloração das folhas, semelhante ao sintoma de deficiência hídrica (Figura 1B). Um corte longitudinal no caule da planta infectada expõe o sistema vascular escurecido (Figura 1C), e o teste do copo detecta a exsudação do pus bacteriano, visualizado como um fio leitoso em água límpida (Figura 1D) (FILGUEIRA, 2003; LOPES; QUEZADO-SOARES, 1997).

A disseminação a curta distância ocorre pela movimentação de solo, maquinário agrícola e utilização de ferramentas contaminadas nas práticas culturais, introduzindo a doença em novas áreas. Neste processo, a capacidade de sobrevivência da bactéria no solo, água e restos de cultura, a presença de infecções latentes, bem como os hospedeiros alternativos e plantas invasoras têm influência fundamental (COUTINHO, 2005; HAYWARD, 1994). A disseminação a longa distância ocorre principalmente pelo transporte de material vegetal infectado. Existem controvérsias quanto à importância da transmissão do patógeno a partir de sementes de pimentão contaminadas. Segundo Moffet, Giles e Wood (1981) sementes infectadas de pimentão podem ser um importante meio de disseminação enquanto que Momol et al. (2003) na Flórida, não consideram esta transmissão importante apesar do seu relato em tomate, berinjela e amendoim (MOFFET; GILES; WOOD, 1981). No Brasil, não existem dados sobre a disseminação por sementes, mas, aparentemente, elas não são veículos importantes na disseminação de *R. solanacearum* em pimentão (TAKATSU; LOPES, 1997).

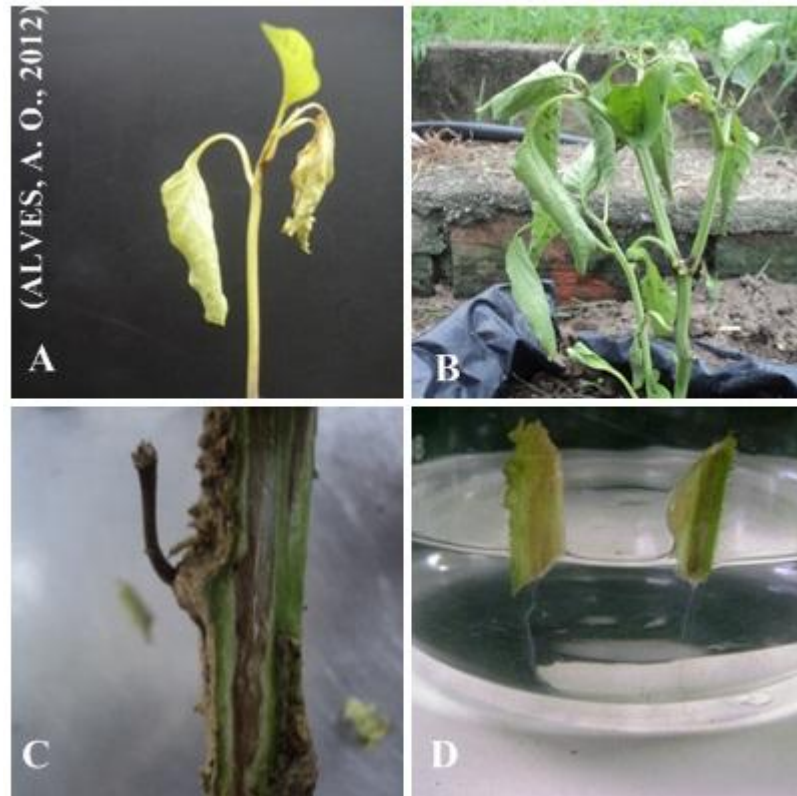


Figura 1. Sintomas e sinais da murcha bacteriana em plantas de pimentão. A) Murcha em planta conduzida em casa de vegetação; B) Murcha em planta conduzida na Horta Experimental da Universidade Federal Rural de Pernambuco; C) Corte longitudinal do caule da planta infectada, mostrando o escurecimento do sistema vascular; D) Teste do copo, mostrando a exsudação do pus bacteriano a partir de fragmento de caule infectado.

A sobrevivência de *R. solanacearum* foi estudada em dez diferentes tipos de solo na ausência da planta hospedeira e em tecidos de caule e raiz de pimentão. No solo a bactéria sobreviveu por 42 a 77 dias, enquanto que em tecidos de caule e raízes a sobrevivência foi de 7 e 17 dias, respectivamente. Os diferentes tipos de solos bem como os tecidos infectados foram considerados potenciais fontes primárias de inóculo do patógeno apenas durante um curto período (FÉLIX et al., 2012).

Características do patógeno

Ralstonia solanacearum pertence ao reino Procariotae, divisão Bactéria, classe Proteobacteria, subclasse β -Proteobacteria, ordem Burkholderiales, família Burkholderiaceae (EUZÉBY, 2009). É considerada como uma espécie heterogênea ou um complexo de espécies, devido a grande variabilidade em relação a gama de hospedeiras, distribuição

geográfica, virulência, transmissibilidade por insetos, propriedades fisiológicas e adaptação a diferentes temperaturas (ELPHINSTONE, 2005; FEGAN; PRIOR, 2005).

Essa espécie é uma bactéria habitante natural do solo, Gram-negativa, não formadora de esporo, em forma de bastonete, reto ou levemente curvo, nunca helicoidal, medindo aproximadamente 0,5-1,0 x 1,5-3,0 μm , não produz pigmento fluorescente, mas produz pigmento marrom em meio de cultura sólido contendo tirosina. Isolados virulentos são essencialmente não flagelados e não móveis, enquanto os isolados avirulentos são móveis por meio de 1 a 4 flagelos polares. Tem o metabolismo oxidativo, considerado geralmente como aeróbio estrito, no entanto cresce limitadamente quando as células não estão em contato direto com o ar. Produzem poli- β -hidroxi-butilato. Comumente reduz nitrato a nitrito produzindo gás, realiza fraca hidrólise da gelatina, mas não hidrolisa o amido, nem utiliza arginina ou betaína como fonte de carbono. Tem bom crescimento entre 25 a 35°C, variando de acordo com os isolados; os provenientes de áreas tropicais têm uma temperatura ótima alta (35 °C), enquanto que, isolados que ocorrem em altitudes mais elevadas nas regiões tropicais e subtropicais e em zonas temperadas têm temperatura ótima menor, cerca de 27°C; nenhum crescimento é observado a 4 ou 40°C. Quanto aos requisitos de pH, o crescimento é inibido em meio ácido e favorecido em condições alcalinas. É tolerante a sais, podendo crescer em NaCl a 1% em meio líquido, mas pouco ou nada em NaCl 2% (EPPO, 2004; KELMAN, 1953; MEHAN et al., 1994).

Ralstonia solanacearum tem alta variabilidade e adaptação a uma grande gama de hospedeiros e condições climáticas, sendo classificada atualmente em quatro níveis taxonômicos: espécie, filotipo, sequevar e clone. Entretanto, os sistemas de raças, biovars e biotipos são também utilizados pela comunidade científica, pela praticidade dos métodos (FEGAN; PRIOR, 2005; GILLINGS; FAHY, 1994).

As raças são determinadas com base na gama de hospedeiros. A raça 1 afeta o maior número de espécies, com ênfase em solanáceas, como tomate, pimentão, fumo, batata, mas afetando grande número de outras famílias botânicas. Está presente nos cinco continentes, com exceção de alguns países da União Europeia (UE). A raça 2 engloba os isolados que infectam a bananeira triploide (banana comestível e banana subgrupo Terra ou “plátano”) e helicônias, ocorrendo principalmente em áreas tropicais da América do Sul e também nas Filipinas. A raça 3 coloniza especificamente batata e ocasionalmente tomate, mas não coloniza outras culturas, ocorrendo nos cinco continentes. É uma praga quarentenária nos Estados Unidos e Canadá, e na UE está relacionada com infecções latentes em batatas. A raça 4 infecta o gengibre e espécies relacionadas, ocorrendo na Ásia, enquanto que a raça 5 infecta

a amoreira (*Morus alba* L.) e se limita a China (ELPHINSTONE; 2005; EPPO/CABI, 2006; HAYWARD, 1994).

As biovars 1, 2A, 2T (N2), 3, 4, e 5 são definidas com base na capacidade do patógeno de utilizar e/ou oxidar vários mono e dissacarídeos e alcoóis, como única fonte de carbono, com formação de ácidos, além da produção de nitrito e gás a partir de nitrato (HAYWARD, 1994; HE; SEQUEIRA; KELMAN, 1983). A biovar 1 predomina em regiões de clima quente, estando presente em todas as regiões do país. O biovar 2 predomina em regiões de clima temperado, e no Brasil está presente nas regiões de climas amenos do Sul, Sudeste e Centro-Oeste. A adição dos carboidratos trealose e inositol, revelou a existência de novos fenótipos: isolados que infectam batata, e utilizam inositol, mas não a trealose, encontrados especialmente no Chile e na Colômbia, foram denominados como 2A, enquanto que isolados que consomem ambos os substratos, encontrados em terras mais baixas, principalmente no Peru e no Brasil foram denominados de 2T (Tropical) ou N2. Já a biovar 3 está mais adaptada às regiões quentes dos trópicos, no Brasil predomina nas regiões Norte e Nordeste (HAYWARD, 1994; REIFSCHNEIDER; TAKATSU; 1985).

A classificação em filotipo é determinada por PCR-multiplex, baseada nas variações de tamanho da sequência na região ITS, gene *hrpB* e do gene *egl*, estando fortemente relacionado à origem geográfica do patógeno. O filotipo I contém as biovars 3, 4 e 5, originadas da Ásia e corresponde a divisão I de Cook, Barlow e Sequeira (1989). O filotipo II, equivale a divisão II, e inclui as biovars 1 e 2 e 2T, originadas das Américas, a raça 3 da batata e isolados da raça 2 de banana. O filotipo III compreende os isolados pertencentes as biovars 1 e 2T, da África e ilhas vizinhas. O filotipo IV é o mais heterogêneo, com as biovars 1, 2 e 2T, oriundos da Indonésia, Austrália e Japão, e duas bactérias relacionadas, a *R. syzygii* (Roberts et al.) Vanechoutte et al., agente causal da “doença de Sumatra do cravo-da-índia” em Java e Sumatra e “blood disease bacterium” (BDB) que ocorre na Indonésia (FEGAN; PRIOR, 2005).

Cada filotipo possui um número de sequevars (sequência variante), este definido como um grupo de isolados com uma sequência altamente conservada, analisada pelo sequenciamento do gene da endoglucanase (*egl*). Xu et al. (2009), na China, identificaram 51 sequevars. A classificação em biotipo considera a utilização de maltose, manitol, malonato, trealose, inositol e hipurato, separando 11 biotipos que se correlacionam com sequevars. Já a utilização de técnicas que mostram diferenças no genoma, tais como Rep-PCR, RAPD, AFLP e PFGE, permite a separação dos grupos de *R. solanacearum* em linhagens clonais ou clones (FEGAN; PRIOR, 2005; HORITA; TSUCHIYA, 2001; IVEY et al., 2007).

Controle da murcha bacteriana do pimentão

Após o surgimento de uma fitobacteriose é impossível curar a planta infectada. As medidas de controle recomendadas visam à exclusão e, eventualmente, a erradicação do patógeno, impedindo a infestação do campo de cultivo ou modificando o ambiente para torná-lo inóspito ao patógeno (GALLI, 1980).

Não existem medidas adequadas de controle curativo para a murcha bacteriana, uma vez que o patógeno: apresenta distribuição cosmopolita, localiza-se no xilema da planta hospedeira ou em grandes profundidades no solo, e é autóctone na maioria das áreas cultivadas, tornando o controle químico inviável e antieconômico (AGRIOS, 2005; KUROZAWA; PAVAN; KRAUSE-SAKATE, 2005). Não existem agroquímicos capazes de curar uma planta ou mesmo protegê-la contra infecções bacterianas, e ainda os antibióticos testados muitas vezes têm apenas ação *in vitro*, não se recomendando sua aplicação *in vivo*, pois não são absorvíveis nem translocáveis na planta, sendo facilmente lavados pelas águas das chuvas além de perturbar a harmonia dos ecossistemas (ROMEIRO, 2005).

No Brasil, não existem antibióticos registrados para o controle químico de *R. solanacearum* e o brometo de metila utilizado durante vários anos para reduzir populações de *R. solanacearum* em solos e substratos, foi proibido com base no Protocolo de Montreal, pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (ROSSKOPF et al., 2005). Desta forma, são apenas recomendadas medidas que visam impedir ou retardar o surgimento da doença, tais como: plantio em áreas novas e distantes dos locais de cultivos anteriores; uso de material propagativo sadio adquirido em locais idôneos e certificados; cuidados com a água de irrigação prevenindo a disseminação do patógeno; controle de nematoides; cuidados nos tratamentos culturais como capina, desbrota; e rotação de cultura (LOPES; QUEZADO, 1997; SILVEIRA; MICHEREFF; MARIANO, 1996).

A resistência genética tem sido um dos meios mais efetivos de controle da murcha bacteriana em diversas culturas, porém com resultados inconsistentes, devido à grande variabilidade e complexidade da espécie e sua interação com fatores ambientais (LOPES; QUEZADO-SOARES; MELO, 1994). Dezenove acessos nativos de *Capsicum chinense* Jack e *C. annum* L., e cultivares comerciais de pimentão foram avaliados e apenas três acessos foram identificados como resistentes à murcha bacteriana para ensaios futuros em programas de melhoramento genético (DEMOSTHENES; BENTES, 2010).

Controle alternativo de doenças

A agricultura alternativa surgiu do interesse público pelas questões ambientais, uma vez que o uso intensivo e indiscriminado de agroquímicos tem causado diversos problemas ao meio ambiente como a contaminação de águas, solos, animais e alimentos; a intoxicação de agricultores; a eliminação de microrganismos responsáveis pela degradação de matéria orgânica ou de organismos utilizados em programas de controle biológico; e a resistência de fitopatógenos, pragas e plantas daninhas a certos agroquímicos, entre outros (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003).

O controle alternativo de doenças de plantas pode ser definido como a integração de medidas não poluentes, aplicadas de forma preventiva, que visa à redução da intensidade de doença e o aumento da produção, da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas, permitindo o emprego de táticas e métodos culturais, mecânicos, físicos, legislativos, biológicos e de resistência genética, entre outros, prevenindo e reduzindo a intensidade das doenças (PAULA JÚNIOR et al., 2006).

Dentre as medidas de controle alternativo de doenças de plantas, inclusive de fitobacterioses, destaca-se a utilização de extratos vegetais e óleos essenciais, os quais agem na defesa de plantas contra fitopatógenos. No entanto, essas propriedades são dependentes de uma série de fatores inerentes às plantas, como o órgão vegetal utilizado, a idade e o estágio vegetativo, além de fatores ambientais, como o pH do solo, a estação do ano e os diferentes tipos de estresse. A sua eficiência também depende da espécie envolvida, do tipo de doença controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação desses produtos (SILVA et al., 2006). Óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e erva-cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown) apresentaram eficácia quando utilizados puros sobre os isolados de *R. solanacearum* de tomate e pimentão testados (MARTINS et al., 2009; 2011). Com isolados da bananeira foram testados *in vitro* os óleos de citronela, eucalipto (*Eucalyptus* spp. L.), cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) e gengibre (*Zingiber officinalis* L.) a 1,25; 3,5; 3,75 e 5%, e extratos de cravo-da-índia, gengibre, canela (*Cinnamomum zeylanian* Blume.) e melão-de-são-caetano (*Mormodica charantia* L.) a 5, 10, 15 e 20%. Apenas o extrato de gengibre e óleos de citronela, cravo e gengibre inibiram o crescimento em todas as concentrações testadas, destacando-se o óleo de cravo como o melhor tratamento (AMORIM et al., 2011).

A biofumigação é uma técnica de desinfestação do solo através da adição de matéria orgânica ou óleos essenciais que liberam substâncias tóxicas aos fitopatógenos (BAPTISTA

et al., 2006). Em casa de vegetação foram testados a eficácia dos óleos essenciais de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), palmarosa (*Cymbopogon martini* (Roxb.) Wats.), capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.), orégano grego (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Link.) e árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia* (Cheel.) por biofumigação a 0,04 e 0,07%, cujas populações bacterianas declinaram a níveis indetectáveis quando tratadas com óleo de tomilho, palmarosa e capim limão, em ambas concentrações. Mudanças de tomateiro foram transplantadas para esse solo, e não apresentaram sintomas de murcha bacteriana (PRADHANANG et al., 2003).

Em 2002, JI et al. (2005) testaram os óleos de tomilho e palmarosa a 0,7% em condições de campo para o controle da murcha bacteriana do tomateiro, por biofumigação. O óleo de tomilho foi mais efetivo do que o de palmarosa, com 33,1% e 48,1% de plantas murchas, respectivamente. No ano seguinte, quando apenas o óleo de tomilho foi utilizado, 12% de plantas apresentaram sintomas da doença, enquanto que em solos não tratados a incidência foi de 65,5%, indicando o potencial deste óleo para biofumigação.

Os óleos de palmarosa (0,04; 0,07 e 0,14%, v:v) e capim limão (0,07; 0,14%) inibiram totalmente o crescimento *in vitro* de isolados de *R. solanacearum* raça 4 obtidos de gengibre, ao contrário do óleo de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) a 0,04; 0,07 e 0,14%. Em casa de vegetação este isolado não foi detectado após biofumigação do solo com os óleos de palmarosa e capim limão (0,07 e 0,14%) e a incidência da murcha bacteriana foi significativamente reduzida (PARET et al., 2010). Seguindo as mesmas etapas, Huang e Lakshman (2010) verificaram que *R. solanacearum* foi a mais sensível dentre sete bactérias fitopatogênicas ao óleo de cravo (*Eugenia aromatica* (L.) Baill). Em casa de vegetação, a fumigação do solo com o óleo a 0,5% reduziu as populações da bactéria a níveis indetectáveis e nenhuma das plantas de tomate e gerânio transplantadas apresentaram sintomas de murcha.

Além da biofumigação com óleos essenciais, outro método de controle alternativo promissor para *R. solanacearum* envolve o uso do silício. O Si apresenta um papel ativo na potencialização e antecipação (priming) da expressão de genes que ativam as enzimas de defesa, em nível transcricional em tomateiros inoculados com *R. solanacearum*, sugerindo que promove uma maior estabilidade gênica e reduz o estresse biótico imposto pelo patógeno através da indução de resistência (GHAREEB et al., 2011).

A adição desse elemento [1,4 mM Si(OH)₄] (4 ml L⁻¹ de solução nutritiva) reduziu significativamente a incidência da murcha bacteriana em genótipo suscetível (L390) e moderadamente resistente (King Kong 2) de tomateiro. Este resultado sugeriu o Si como indutor de resistência, uma vez que houve correlações negativas entre o conteúdo de Si na raiz

e o número de bactérias na parte mediana do caule (DANNON; WYDRA, 2004). Nos genótipos King Kong 2 e Hawaii 7998, a aplicação do Si reduziu a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em 33,8% e 81,2%, respectivamente. As análises imunohistoquímicas indicaram que após o tratamento com Si houve uma indução de resistência basal na parede celular envolvendo mudanças na estrutura de polissacarídeos pécticos e, conseqüentemente, redução da colonização pela bactéria nos vasos do xilema (DIOGO; WYDRA, 2007).

Na Etiópia, a adubação com Si e bagaço de cana reduziu significativamente a população de *R. solanacearum*, a incidência da murcha em tomateiro e a AACPD em plantas moderadamente resistentes (King Kong 2), mas não foi eficiente em plantas moderadamente suscetíveis (Marglobe). Os autores recomendaram a fertilização com Si como um manejo do solo para promover a resistência em cultivares moderadamente resistentes onde a murcha bacteriana prevalecia (AYANA et al., 2011).

Tanto os óleos essenciais vegetais quanto o Si atuam indiretamente no controle de doenças pela sinalização para a expressão de enzimas removedoras de espécies reativas de oxigênio e/ou envolvidas na patogênese, elevando a síntese de proteínas totais solúveis. Dentre as citadas enzimas estão a catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX), polifenoloxidase (PFO), β -1,3-glucanase (GLU) e quitinase (QUI).

A CAT, APX e SOD, conhecidas como 'scavengers', são responsáveis pelo sistema de limpeza das células vegetais, detoxificando o excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs). Essas EROs, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são produzidas pelas plantas durante a reposta de defesa ao ataque de um patógeno e têm papel importante na proteção vegetal. No entanto, simultaneamente à sua produção, as plantas diminuem a capacidade de eliminá-las, e quanto acumuladas são prejudiciais podendo levar à oxidação de proteínas, ácidos graxos insaturados e DNA, causando danos celulares e ativando a morte celular programada (PCD). Portanto, a habilidade do sistema em detoxificar EROs é um processo crucial que controla a concentração dessas espécies reativas e o estado redox das células (APEL; HIRT, 2004; HALLIWELL, 2006).

A CAT está presente nos peroxissomas e glioxissomas das plantas e pode dismutar diretamente o H_2O_2 , em água e oxigênio, ou oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico. Pode exercer uma função de lignificação, mas sua exata função biológica permanece desconhecida (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003). A APX também catalisa a redução do peróxido para água, utilizando o ascorbato como doador de

elétrons (NOCTOR; FOYER, 1998). A superexpressão da APX em plantas de fumo transgênicas, pela inserção do gene da ascorbato peroxidase de pimentão (CAPOA1), promoveu resistência a *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan e fraca resistência a *Rs* (SAROWAR et al., 2005). A SOD é encontrada nos cloroplastos e catalisa a conversão de radicais superóxido (O_2) a H_2O_2 (MITTLER, 2002).

A POX é responsável pelos processos fisiológicos e bioquímicos como crescimento, formação celular, desenvolvimento de frutos, biossíntese de etileno e resposta a vários estresses (MATAMOROS et al., 2003), e em plantas de tomateiro, está envolvida na última etapa de lignificação da parede celular (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). Plantas tratadas com Supa Sílica[®] e com silicato de cálcio apresentaram aumento na atividade dessa enzima (ANDRADE, 2012).

As PFO são enzimas de defesa que catalisam a oxidação de *orto*-difenois formando *orto*-quinonas, as quais apresentam atividade antimicrobiana e também estão envolvidas na biossíntese da lignina (UMESHA, 2006). Tomateiros tratados com Supa Sílica[®] por pulverização e silicato de cálcio incorporado ao solo apresentaram maior atividade de PFO durante o processo infeccioso com *P. syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young Dye & Wilkie (ANDRADE, 2012). Liang et al. (2005) também verificaram aumento na atividade da enzima PFO em plantas de pepino supridas com Si e inoculadas com *Podosphaera xanthii* (Castagne) Braun & Shishkoff, enquanto raízes de plantas de pepino infectadas e colonizadas por *Pythium ultimum* Trow, tratadas com Si apresentaram aumento na atividade desta enzima (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994).

A β -1,3-glucanase é uma proteína relacionada à patogênese, que possui atividade hidrolítica, exercendo o controle de doenças mediante a quebra de polímeros estruturais (β -1,3-glucanos) presentes nas paredes dos patógenos e liberando oligossacarídeos biologicamente ativos (elicitors e supressores) capazes de regular o estado de imunização da planta (LABANCA, 2002). O controle de fitobacterioses utilizando o silício no promoveu o aumento da atividade da GLU para a mancha angular do algodoeiro (OLIVEIRA et al., 2012) e de *Pythium aphanidermatum* em pepino (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994). Já a QUI é responsável por catalisar a hidrólise da quitina (polímero de N-acetilglucosamina), componente da parede celular fúngica e exoesqueleto de artrópodes (WEN-CHI et al., 1998).

Muitos são os questionamentos sobre a etiologia, ecologia, epidemiologia e controle desse complexo de espécies, ainda denominado *R. solanacearum*, sendo necessários mais estudos que possam fundamentar, principalmente, estratégias eficazes de controle. Neste contexto, o controle alternativo é uma ferramenta a ser utilizada dentro do manejo integrado

da murcha bacteriana do pimentão. Apesar da importância desta doença no Brasil, não foram encontrados artigos publicados sobre a influência do silício ou de óleos essenciais vegetais no controle desta doença. Visando preencher esta lacuna, este trabalho teve como objetivos testar o efeito de óleos vegetais e do silício no controle desta doença, seus efeitos diretos sobre o crescimento de *Rs* e verificar os possíveis mecanismos envolvidos nestes processos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP – negócios e consultoria, 2008. 502 p.

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira, Pimentão**. São Paulo: FNP – negócios e consultoria, p. 408-410, 2012.

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th Ed. San Diego: Academic Press, 2005. 922p.

AMORIM, E. P. R.; ANDRADE, F. W. R.; MORAES, E. M. S.; SILVA, J. C.; LIMA, R. S.; LEMOS, E. E. P. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Ralstonia solanacearum* em mudas de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, Volume Especial, p. 392-398, 2011.

ANDRADE, C. C. L. **Silício e indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2012.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**: relatório de atividades de 2010. Gerência Geral de Toxicologia: Brasília, 2011. 26p.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 373-99, 2004.

AYANA, G.; FININSA, C.; AHMED, S.; WYDRA, K. Effects of soil amendment on bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and tomato yields in Ethiopia. **Journal of Plant Protection Research**, v. 51, n. 1, p. 72-76, 2011.

BAPTISTA, M.; SOUZA, R. B.; PEREIRA, W.; LOPES, C. A.; CARRIJO, O. A. Efeito da solarização e biofumigação na incidência da murcha bacteriana em tomateiro no campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 161-165, 2006.

BERIAM, L. O. S. Doenças bacterianas em hortaliças. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 81-84, 2007.

BUDDENHAGEN, I. W.; KELMAN, A. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 2, p. 203-230, 1964.

CABI. 2006. **Crop Protection Compendium**. United Kingdom: Wallingford: CAB International. Disponível em: <http://www.cabicompendium.org/cpc>. Acesso: 16 abr. 2012.

CEASA/PE - Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco. **Calendário de comercialização**. 2008. Disponível em: http://www.ceasape.org.br/calend_municipios.php Acesso em: 02 abr. 2008.

CEASA/PE - Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco. **Comparativo dos preços (mais comum) em nível de atacado**. Comparativo mensal FEVEREIRO/2012. Disponível em: <http://www.ceasape.org.br/verArtigo.php?id=138>. Acesso em 02 abr. 2012.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* sp. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, n. 3, p. 236-242, 1994.

COELHO NETTO, R. A.; PEREIRA, B. G.; NODA, H.; BOHER, B. Caracterização de isolados de *Ralstonia solanacearum* obtidos de tomateiros em várzea e em terra firme no Estado do Amazonas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 362-366, 2003.

COOK, D.; BARLOW, E.; SEQUEIRA, L. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum*: detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and the hypersensitive response. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 2, n. 3, p. 113-121, 1989.

COUTINHO, T. A. Introduction and prospectus on the survival of *R. solanacearum*. In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. Saint Paul: APS Press, 2005. p. 29-38.

DANNON E; WYDRA K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.64, p.233-43, 2004.

DEMOSTHENES, L. C. R.; BENTES, J. L. Fontes de resistência à murcha bacteriana em germoplasma de *Capsicum* spp. do estado do Amazonas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 41, n. 3, 2010.

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**, London, v. 70, p. 120-129, 2007.

EMATER/DF – **Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal**. Vinculada à Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – SEAPA. 2007.

ELPHINSTONE, J. G. The current bacterial wilt situation: a global overview. In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. (Eds.). **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. Saint Paul, MN: American Phytopathological Society, 2005. p. 9-28.

EPPO/CABI. **Distribution maps of plant diseases: *Ralstonia solanacearum*** (2003-2006). Disponível em: <<http://www.cabi.org/DMS>>. Acesso: 16 abr. 2012.

EPPO. EPPO Standards PM 7/21. Diagnostic protocols for regulated pests: *Ralstonia solanacearum*. **EPPO Bull**, Oxford, v. 34, p. 173-178, 2004.

ERS – Economic Research Service. 2003. **Statistical Indicators**. USDA–Economic Research Service Publications. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/>>. Acesso: 16 abr. 2012.

EUZÉBY, J. P. **List of prokaryotic names with standing in nomenclature**. France, 2009. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/classifphyla.html>>. Acesso em: 17 abr. 2012.

FEGAN, M.; PRIOR, P. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex? In: ALLEN, C.; PRIOR, P.; HAYWARD, A. C. (Eds.). **Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex**. Saint Paul: APS Press, 2005. p. 449-461.

FÉLIX, K. C.; SOUZA, E. B.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Survival of *Ralstonia solanacearum* in infected tissues of *Capsicum annuum* and in soils of the state of Pernambuco, Brazil. **Phytoparasitica**, Israel, v. 40, p. 53-62, 2012.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção de hortaliças**. 1ª. ed. Viçosa: Editora UFV, 2000. 402p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Solanáceas: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, berinjela e jiló**. Viçosa: Editora UFLA, 2003. 332p.

GALLI, F. P. (Coord.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v. 2, Piracicaba: Ceres, 1980. 600 p.

GARCIA, A. L. **Diversidade populacional de *Ralstonia solanacearum* em pimentão no estado de Pernambuco e controle da murcha bacteriana**. 2011. 99f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2011.

GHAREEB, H.; BOZSÓ, Z.; OTT, P. G.; REPENNING, C.; STAHL, F.; WYDRA, K. Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 75, n. 3, p. 83-89, 2011.

GILLINGS, M. R.; FAHY, P. Genomic fingerprinting: towards a unified view of the *Pseudomonas solanacearum* species complex. In: HAYWARD, A.C.; HARTMAN, G.L. (Eds.). **Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum***. Wallingford: CAB International, 1994, p. 95-112.

GONZÁLEZ, E. T.; ALLEN, C. Characterization of a *Ralstonia solanacearum* operon required for polygalacturonate degradation and uptake of galacturonic acid. **Molecular Plant Microbe Interaction**, Saint Paul, v. 16, p. 536-544, 2003.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; PEREIRA, P. R. V. S.; MOURÃO JUNOR, M. **Aspectos agronômicos de híbridos de pimentão em cultivo protegido em Roraima**. Boa Vista: Embrapa, 2005. 15p. (Embrapa. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 1).

HALLIWELL, B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. **Plant Physiology**, Washington, v. 141, n. 2, p. 312-322, 2006.

HAYWARD, A. C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 65-87, 1991.

HAYWARD, A. C. The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: HAYWARD, A. C.; HARTMAN, G. L. (Eds.) **Bacterial wilt** - The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. Wallingford: CAB International, 1994, p. 9-24.

HE, L. Y.; SEQUEIRA, L.; KELMAN, A. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, n.12, p. 1357-1361, 1983.

HENZ, G. P.; COSTA, C. S. R. da; CARVALHO, S.; BANCI, C. A. **Caderno Técnico: Como cultivar pimentão**. Revista Cultivar Hortaliças e Frutas, Pelotas, nº 42, 2007. 6p.

HIKICHI, Y.; YOSHIMUCHI, T.; TSUJIMOTO, S.; SHINOHARA, R.; NAKAHO K.; KANDA, A.; KIBA, A.; OHNISHI, K. Global regulation of pathogenicity mechanism of *Ralstonia solanacearum*. **Plant Biotechnology**, Sheffield, v. 24, n. 1, p. 149-154, 2007.

HORITA, M.; TSUCHIYA, K. Genetic diversity of Japanese strains of *Ralstonia solanacearum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, n. 4, p. 399-407, 2001.

HUANG, Q.; LAKSHMAN, D. K. Effect of clove oil on plant pathogenic bacteria and bacterial wilt of tomato and geranium. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 92, p. 701-707, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário**, 2006.

IVEY, M. L. L.; GARDNER, B. B. M.; OPINA, N.; MILLER, S. A. Diversity and geographic distribution of *Ralstonia solanacearum* from eggplant in the Philippines. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 97, n. 11, p. 1467-1475, 2007.

JI, P.; MOMOL, M. T.; OLSON, S. M.; PRADHANANG, P. M.; JONES, J. B. Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 497-500, 2005.

KELMAN, A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*: A literature review and bibliography. **Agricultural Experiment Technical Bulletin**, North Carolina, 1953. 194p.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. Doenças das solanáceas. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds). **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. Vol. 2. 3ª ed. Editora Ceres, São Paulo – SP. 2005, p. 589-596.

LABANCA E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. 2002. 107f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

LIANG, Y. C.; SUN, W. C.; SI, J.; ROMHELD, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, p. 678-685, 2005.

LIU, H. L.; ZHANG, S. P.; SCHELL, M. A.; DENNY, T. P. Pyramiding, unmarked deletions in *Ralstonia solanacearum* shows that secreted proteins in addition to plant cell-wall-degrading enzymes contribute to virulence. **Molecular Plant Microbe Interaction**, Saint Paul, v. 18, p. 1296-1305, 2005.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M.; MELO, P. E. Differential resistance of tomato cultigens to biovars I e III of *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 78, n. 11, p. 1091-1094, 1994.

LOPES, C. A.; QUEZADO-SOARES, A. M. **Doenças bacterianas das hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa – Serviço de Produção de Informação, 1997. 70 p.

LOPES, C. A.; REISFSCHNEIDER, F. J. B. Manejo integrado das doenças da batata. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, p. 56-60, 1999.

MALAVOLTA JÚNIOR, V. A.; BERIAM, L. O. S.; ALMEIDA, I. M. G.; RODRIGUES NETO, J.; ROBBS, C. F. Bactérias fitopatogênicas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, Suplemento especial, p. 1-88, 2008.

MARIANO, R. L. R.; CABRAL, G. B.; SILVA, M. S. S. G. Levantamento das fitobacterioses do Estado de Pernambuco em 1987. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, p. 130, 1988.

MARIANO, R. L. R.; MELO, R. A. G.; HOLANDA, V. T.; CABRAL, G. B.; SILVA, M. S. S. G. Levantamento das fitobacterioses do Estado de Pernambuco no biênio 1987-1988. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, p. 158, 1989.

MARQUES, A. S. A.; ROBBS, C. F.; BOITEUX, L. S.; PARENTE, P. M. G. **Índice de fitobacterioses assinaladas no Brasil**. Brasília: Embrapa/Cenargem, 1994. 65 p.

MARTINS, E. S. C. S.; SANTOS, M. S. S.; BARROS, H. M. M.; FARIAS, M. A. A. F. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de citronela, alecrim e erva-cidreira no controle in vitro da bactéria *Ralstonia solanacearum* em tomateiro. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 3, p. 29-34, 2009.

MARTINS, E. S. C. S.; FARIAS, M. A. A. F.; SANTOS, M. S. S.; BARROS, H. M. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle in vitro da *Ralstonia solanacearum* em tubérculos de batata. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 5, n. 1, p. 25-29, 2011.

MATAMOROS, M. A.; DALTON, D. A.; RAMOS, J.; CLEMENTE, M. R.; RUBIO, M. C.; BECANA, M. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 133, p. 499-509, 2003.

MATOS, F. A. C. **Evolução, Tendência, Perspectivas e Desafio Futuro do Agronegócio da Olericultura no Brasil e Distrito Federal**. EMATER/DF – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal. 2010. 27 p. Disponível em: <<http://www.emater.df.gov.br/sites/200/229/00001806.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2012.

MEHAN, V. K.; LIAW, B. S.; TAN, Y. J.; ROBINSON-SMITH, A.; MCDONALD, D.; HAYWOD, A. C. **Bacterial wilt of Groundnut**. Patancheru: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1994, n. 35, 28p. (Information Bulletin, 35).

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 7, p. 405-410, 2002.

MOFFETT, M. L.; GILES, J. E.; WOOD, B. A. Survival of *Pseudomonas solanacearum* biovars 2 and 3 in soil: effect of moisture and soil type. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 15, n. 5, p.587-591, 1981.

MOMOL, T.; PRADHANANG, P.; LOPES, C. A. **Bacterial Wilt of Pepper**. EDIS: University of Florida IFAS Extension, p. 189, 2008. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu>>. Acesso em: 14 fev. 2012.

MOMOL, M. T.; OLSON, S. M.; FUNDERBURK, J. E.; MAROIS, J.J, Integrated management of tomato spotted wilt on tomato. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 93, p. S115 (Abstr.), 2003.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 249-79, 1998.

OLIVEIRA, J. C.; ALBUQUERQUE, G. M. R.; MARIANO, R. L. R.; GONDIM, D. M. F.; OLIVEIRA, J. T. A.; SOUZA, E. B. Reduction of the severity of angular leaf spot of cotton mediated by silicon. **Journal of Plant Pathology**, Itália, v. 94, p. 297-304, 2012.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. da. Controle Alternativo de Doenças de Plantas – Histórico. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 135-162, 2006.

PARET, M. L.; CABOS, R.; KRATKY, B. A.; ALVAREZ, A. M. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 5, p. 521-527, 2010.

PRADHANANG, P. M.; MOMOL, M. T.; OLSON, S. M.; JONES, J. B. Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 423-427, 2003.

REIFSCHENEIDER, F. J. B.; TAKATSU, A. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil: aspectos macroepidemiológicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 213, 1985.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 123-130, 2003.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias Fitopatogênicas**. 2ª. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005, 417p.

ROSSKOPF, E. N.; CHELLEMI, D. O.; KOKALIS-BURELLE, N.; CHURCH, G. T. Alternatives to methyl bromide: A Florida perspective. **APSnet feature story**, On line publication, 2005.

SAILE, E.; MCGARVEY, J. A.; SCHELL, M. A.; DENNY, T. P. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, n. 12, p. 1264 - 1271, 1997.

SAROWAR, S.; KIM, E. N.; KIM, Y. J.; OK, S. H.; KIM, K. D.; HWANG, B. K.; SHIN, J. S. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhances tolerance to oxidative stress and pathogens. **Plant Science**, Oxford, v. 169, p. 55-63, 2005.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de Plantas medicinais no controle de doenças de plantas. In: XXXVI Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2003, Uberlândia. **Anais**. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2003. p. S54-S56.

SILVA, M. A. G. da; BOARETTO, A. E.; MELO, A. M. T.; FERNANDES, H. M. G.; SCIVITTARO, W. B.. Rendimento e qualidade de frutos de pimentão cultivado em ambiente protegido em função do nitrogênio e potássio aplicados em cobertura. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 56, n. 4 (suplemento), p. 1199-1207, 1999.

SILVA, M. B. da; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. A. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). Controle Alternativo de Pragas e Doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 221-246, 2006.

SILVEIRA, N. S. S. D.; MARIANO, R. D. L. R.; MICHEREFF, S. J. *Pseudomonas solanacearum* no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 22, p. 97-111, 1996.

TANS-KERSTEN, J.; BROWN, D.; ALLEN, C. Swimming motility, a virulence trait of *Ralstonia solanacearum*, is regulated by FlhDC and the plant host environment. **Molecular Plant Microbe Interaction**, Saint Paul, v. 17, p. 686-695, 2004.

TAKATSU, A.; LOPES, C. A. Murcha-bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 15, n. 3, p. 170-177, 1997.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Israel, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

WICKER, E.; GRASSART, L.; CORANSON-BEAUDU, R.; MIAN, D.; GUILBAUD, C.; FEGAN, M.; PRIOR, P. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 73, p. 6790-6801, 2007.

XU, J. O.; PAN, Z. C.; XU, J. S.; ZHANG, Z.; ZHANG, H.; ZHANG, L. Q.; HE, L. Y.; FENG, J. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 125, p. 641-653, 2009.

CAPÍTULO II

ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA MURCHA BACTERIANA DO PIMENTÃO

BIOFUMIGAÇÃO COM ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA MURCHA BACTERIANA DO PIMENTÃO

A.O. Alves¹, M.M.B. Santos¹, T.C.G. Santos¹, E.B. Souza¹, R.L.R. Mariano¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil

Autor para correspondência: R.L.R. Mariano

Fax: +55.81.3320-6205

E-mail: rrmbac@gmail.com

SUMÁRIO

A murcha bacteriana do pimentão, causada por *Ralstonia solanacearum* (*Rs*) raça 1, é uma fitobacteriose importante em Pernambuco e outros estados do Brasil. A eficiência de óleos essenciais de bergamota, canela, capim limão, copaíba, eucalipto citriodora, eucalipto globulus, funcho, hortelã, laranja doce, limão, sálvia esclareia e palmarosa foi avaliada para o controle da doença por biofumigação. Solo previamente infestado com *Rs* CGM-8 foi biofumigado com os doze óleos (0,14%; v:v) durante quatro dias em casa de vegetação, e com os óleos de bergamota, laranja doce e palmarosa em campo. Foram avaliados: período de latência (PL₅₀), incidência, índice de murcha bacteriana (IMB) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD); desenvolvimento da planta; população de *Rs* no solo; características do solo; e crescimento de *Rs in vitro*. Os óleos de palmarosa, bergamota e laranja doce elevaram o PL₅₀ e reduziram IMB e AACPD em até 15, 60 e 64,4%, respectivamente, em casa de vegetação. Em campo, apenas o óleo de palmarosa aumentou o PL₅₀ (38%) e reduziu IMB (36%) e AACPD (38%), elevando o número de frutos por planta. Solos biofumigados com os óleos de bergamota e laranja

26 doce apresentaram maiores níveis de sódio que os tratados com palmarosa e
27 testemunha, que não diferiram entre si; entretanto não foram observadas diferenças
28 significativas em campo. *In vitro*, o crescimento de *Rs* foi reduzido pelo óleo de
29 palmarosa. Conclui-se que o óleo essencial de palmarosa tem potencial para o manejo
30 alternativo da murcha bacteriana do pimentão.

31 *Palavras-chave: Ralstonia solanacearum, Capsicum annuum, controle de doenças,*
32 *palmarosa, Cymbopogon martini*

33

34 **INTRODUÇÃO**

35

36 O pimentão (*Capsicum annuum* L.) está entre as cinco hortaliças com maior área
37 cultivada no mundo e tem consumo crescente também no Brasil (Henz *et al.*, 2007). Em
38 2006, os estados de São Paulo, Minas Gerais e Ceará produziram em conjunto cerca de
39 112 mil toneladas (IBGE, 2006), enquanto em 2011, apenas São Paulo comercializou
40 29.291 toneladas (Agriannual, 2012). No estado de Pernambuco, 8º lugar no ranking
41 nacional, a hortaliça é predominantemente cultivada por pequenos produtores,
42 desprovidos de modernos recursos tecnológicos, destacando-se os municípios de
43 Camocim de São Félix, Bezerros, Gravatá, Chã Grande, Brejo da Madre de Deus, São
44 Joaquim do Monte, Sairé, Ibimirim e João Alfredo (Ceasa/PE, 2012; IBGE, 2006).

45 A murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et*
46 *al.* (*Rs*) já foi descrita em mais de 450 espécies, distribuídas em cerca de 54 famílias
47 botânicas, destacando-se as solanáceas e musáceas. Severas perdas têm sido relatadas
48 nas regiões tropicais e subtropicais, em áreas de clima úmido com baixa a média
49 altitudes (Hayward, 1991; Wicker *et al.*, 2007). Em Pernambuco, *Rs* raça 1 tem
50 ocasionado elevados prejuízos nos municípios produtores de pimentão, havendo

51 predominância de isolados pertencentes ao filotipo I, biovar 3, biotipo 8, embora
52 também tenham sido encontrados o filotipo II, biovar 1, biotipos 3 e 6 (Garcia, 2011).

53 Não existem medidas adequadas de controle curativo para a murcha bacteriana,
54 uma vez que o patógeno apresenta distribuição cosmopolita, localiza-se no xilema da
55 planta hospedeira ou em grandes profundidades no solo, e é autóctone na maioria das
56 áreas cultivadas, tornando o controle químico inviável e antieconômico (Kurozawa *et*
57 *al.*, 2005). No Brasil, não existem antibióticos registrados para o controle químico da
58 murcha bacteriana e o brometo de metila utilizado durante vários anos para reduzir
59 populações de *Rs* no solo e substratos, foi proibido com base no Protocolo de Montreal,
60 pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (Roskopf *et al.*, 2005), não
61 sendo mais comercializado. Além disso, o interesse público pelas questões ambientais
62 fez surgir uma agricultura alternativa, onde se destaca, dentre outras medidas, o controle
63 de doenças de plantas pela utilização de extratos e óleos vegetais (Schwan-Estrada *et*
64 *al.*, 2003). Estes produtos podem ser aplicados por biofumigação, técnica de
65 desinfestação do solo através da adição de matéria orgânica ou óleos essenciais que
66 liberam substâncias tóxicas aos fitopatógenos (Baptista *et al.*, 2006).

67 A biofumigação do solo com óleos essenciais pode reduzir a incidência da
68 murcha bacteriana em até 100%. Em casa de vegetação, tomateiros transplantados para
69 solos biofumigados com óleos essenciais de tomilho, palmarosa, capim limão, orégano
70 grego e árvore-do-chá não apresentaram sintomas da doença (Pradhanang *et al.*, 2003);
71 do mesmo modo que plantas de tomate e gerânio em solos tratados com óleo de cravo
72 (Huang e Lakshman, 2010). No entanto, a incidência da murcha bacteriana em gengibre
73 foi apenas reduzida pelo tratamento do solo com óleos de palmarosa e capim limão
74 (Paret *et al.*, 2010). Já em condições de campo, apenas os óleos de tomilho e palmarosa
75 foram efetivos no controle da murcha bacteriana do tomateiro (Ji *et al.*, 2005). Em geral,

76 as populações de *Rs* declinam a níveis indetectáveis em solos biofumigados com esses
77 óleos (Huang e Lakshman, 2010; Paret *et al.*, 2010; Pradhanang *et al.*, 2003).

78 Considerando que, na literatura consultada não existem relatos de utilização de
79 óleos essenciais vegetais no manejo de fitobacterioses do pimentão, o presente trabalho
80 teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação desses óleos por biofumigação de solo
81 no manejo da murcha bacteriana, e seus efeitos diretos sobre o crescimento de *Rs*.

82

83 MATERIAL E MÉTODOS

84

85 **Óleos essenciais.** Óleos de bergamota (*Citrus aurantium* var. *bergamia* L.), canela
86 (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf), copaíba
87 (*Copaifera officinalis* (Jacq.) L.), eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora* Hook),
88 eucalipto globulus (*Eucalyptus globulus* Labill.), funcho ou erva cidreira (*Foeniculum*
89 *vulgare dulce* Mill.), hortelã (*Mentha piperita* L.), laranja doce (*Citrus sinensis* L.),
90 limão (*C. limon* (L.) Burm f.), sálvia esclareaia (*Salvia sclarea* L.) e palmarosa
91 (*Cymbopogon martini* (Roxb.) J.F. Watson), 100% puros e naturais, da marca
92 Bioessência (Florananda Indústria e Comércio de Cosméticos e Produtos Naturais Ltda.,
93 Brasil), foram emulsionados em Tween 20 (proporção 1:1) para aumentar a
94 solubilidade.

95

96 **Infestação do solo.** O isolado *Rs* CGM-8 (filotipo I, raça 1, biovar 3, biotipo 8) foi
97 obtido de coleção de cultura do Laboratório de Fitobacteriologia (Universidade Federal
98 Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil). A bactéria foi cultivada em meio
99 TZC modificado (tetracloroeto de trifenil tetrazólio) (Kelman, 1954), por 48 h a 30 ±
100 2°C, sendo transferida para meio ágar nutritivo-dextrose-extrato de levedura (NYDA)

101 (10 g dextrose, 3 g extrato de carne, 5 g extrato de levedura, 3 g peptona e 18 g ágar l⁻¹),
102 suspensa em água destilada esterilizada (ADE) e a suspensão ajustada para 5x10⁸ UFC
103 ml⁻¹ com fotolorímetro (Analyser 500 M, Brasil). Para a infestação inicial do solo, 60
104 ml de suspensão de *Rs* CGM-8 foram adicionados a sacos plásticos de 2 kg, contendo
105 solo natural. O solo foi mantido em casa de vegetação, onde a temperatura variou de 25
106 a 40°C, com média de 33,5°C.

107

108 **Biofumigação do solo com óleos essenciais em casa de vegetação.** Os doze óleos
109 essenciais foram testados utilizando a metodologia de Paret *et al.* (2010).

110 Sete dias após a infestação do solo, 2,1 ml dos doze óleos foram emulsionados
111 em 80 ml de água e distribuídos uniformemente em cada 2 kg de solo infestado, o que
112 resultou em uma concentração final de 0,14% (v:v). O solo foi incubado durante quatro
113 dias em sacos plásticos transparentes e vedados. Após este período, os sacos foram
114 abertos durante três dias para liberação dos compostos voláteis. Além da testemunha
115 relativa (contendo *Rs*, mas sem óleo essencial), as seguintes testemunhas foram
116 estabelecidas: i) testemunha-tween: contendo *Rs*, Tween 20 e cobertura com plástico,
117 mas sem óleo essencial, para testar o efeito do tween; e ii) testemunha-cobertura
118 plástica: contendo *Rs* e cobertura com plástico, mas sem óleo essencial e sem Tween 20,
119 para testar o efeito da solarização.

120

121 **Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão**
122 **em casa de vegetação.** Plantas de pimentão da cv. Impacto (comercializada pela
123 Seminis, EUA) com 21 dias foram transplantadas para vasos plásticos contendo 500 ml
124 dos solos previamente infestados e biofumigados com os doze óleos, sendo irrigadas
125 conforme necessário. As plantas foram avaliadas diariamente, durante 15 dias quanto à

126 presença de sintomas e severidade da doença (SEV) com auxílio de escala de notas
127 descritiva de 0 a 4 (Nielsen e Haynes, 1960), onde: 0 = ausência de sintomas, 1 =
128 plantas com 1/3 das folhas murchas, 2 = plantas com 2/3 das folhas murchas, 3 =
129 plantas totalmente murchas e 4 = plantas mortas. Com os dados obtidos foram
130 determinados os seguintes componentes de resistência da doença: a) período de latência
131 (PL₅₀), número de dias requeridos para o aparecimento de murcha em 50% das plantas
132 inoculadas (Silveira *et al.*, 1999); b) incidência (INC) da murcha bacteriana,
133 determinada pela porcentagem de plantas infectadas em relação ao total de plantas
134 inoculadas; c) índice de murcha bacteriana (IMB) aos 15 dias (Empig *et al.*, 1962); e d)
135 área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Shaner e Finney, 1977). O
136 delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Cada
137 repetição foi constituída por quatro vasos com uma planta cada.

138

139 **Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão**
140 **em campo.** Os óleos de bergamota, laranja doce e palmarosa (0,14%) foram testados
141 em campo. A biofumigação foi conduzida em canteiros da Horta Experimental da
142 UFRPE, utilizando a metodologia descrita anteriormente. Sacos plásticos contendo 2 kg
143 de solo natural infestado com 60 ml de suspensão de *Rs* CGM-8 e biofumigados foram
144 dispostos em canteiros de modo que apenas 2 cm ficassem acima da superfície do solo.
145 Mudas de pimentão com 21 dias de cultivo foram então transplantadas e regadas por
146 aspersão. A testemunha constou de plantas cultivadas em solo infestado, mas não
147 biofumigado. A avaliação foi realizada diariamente durante 45 dias quanto ao PL₅₀,
148 SEV, IMB e AACPD. Ao final do experimento, as plantas sobreviventes foram levadas
149 ao laboratório e avaliou-se: biomassa fresca e seca (após 72 h em estufa a 65°C) das
150 raízes e parte aérea, e produção de pimentão (número e peso de frutos).

151 As populações de *Rs* CGM-8 foram analisadas, ao final dos experimentos,
152 coletando-se em cada tratamento amostras de solo da rizosfera com 10 g, as quais foram
153 adicionadas a 90 ml de ADE contida em Erlenmeyers. Em condições assépticas,
154 diluições seriadas até 10^{-6} foram realizadas e 0,1 ml plaqueados em meio SMSA
155 modificado (Meio Seletivo África do Sul) (Elphinstone *et al.*, 1996), com três
156 repetições. As placas foram incubadas por 72 h a 30°C, determinando-se a população
157 bacteriana em log UFC g⁻¹ de solo. O delineamento experimental foi inteiramente
158 casualizado com cinco repetições. Cada repetição foi constituída de quatro plantas por
159 canteiro.

160

161 **Efeito dos óleos essenciais nas características químicas do solo.** O solo utilizado em
162 todos os experimentos foi analisado inicialmente determinando-se: pH, P disponível
163 (mg dm⁻³), Na⁺, K⁺, Ca⁺²+Mg⁺², Ca⁺, Al⁺³ trocáveis e acidez potencial (H+Al) (cmolc
164 dm⁻³) (Embrapa, 1999). Ao final de cada experimento, em casa de vegetação ou campo,
165 novas análises químicas foram realizadas. O pH do solo foi ainda analisado: (a) antes da
166 biofumigação com os doze óleos essenciais a 0,14%; (b) 1 hora após; (c) 4 dias e (d) 7
167 dias após estes tratamentos.

168

169 **Sensibilidade *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* aos óleos essenciais.** Os óleos de
170 bergamota, laranja doce e palmarosa a 0,14% foram adicionados ao meio NYDA e
171 vertidos em placas. Alíquotas de 0,1 ml de uma suspensão de *Rs* CGM-8 (5×10^3 UFC
172 ml⁻¹) foram plaqueadas e a testemunha constou de meio NYDA sem adição de óleo. As
173 placas foram incubadas por 72 h a 30°C, determinando-se a população bacteriana em
174 log UFC g⁻¹ de solo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três
175 repetições. Cada repetição foi constituída por uma placa de Petri.

176

177 **Análise estatística.** Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as
178 médias foram comparadas pelos testes de Tukey, LSD ou não paramétrico de Kruskal-
179 Wallis ($P \leq 0,05$). Todos os experimentos foram realizados duas vezes em épocas
180 distintas. Desde que os dados de cada par de experimentos não apresentavam diferenças
181 significativas, eles foram analisados conjuntamente. As análises estatísticas foram
182 realizadas com auxílio do programa Statistix for Windows[®] (versão 9.0, Analytical
183 Software Tallahassee).

184

185 **RESULTADOS**

186

187 **Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão**
188 **em casa de vegetação.** O óleo de palmarosa elevou significativamente ($P \leq 0,05$) o PL_{50}
189 (6,6), enquanto que os óleos de palmarosa, bergamota e laranja doce reduziram o IMB
190 (18,5; 22,9; 26,4) e a AACPD (3,1; 3,5; 4,7) em relação à testemunha ($PL_{50}=5,6$;
191 $IMB=46,0$ e $AACPD=8,7$) (Tabela 1). Com base na testemunha-tween e testemunha-
192 cobertura plástica, incluídas neste experimento, foi possível afirmar que o Tween não
193 agiu sobre *Rs* CGM-8 e a cobertura plástica não teve efeito de solarização.

194

195 **Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão**
196 **em campo.** Apenas o óleo de palmarosa manteve a eficácia no controle da doença
197 elevando significativamente ($P \leq 0,05$) o PL_{50} (15,7) e reduzindo o IMB (32,3) e AACPD
198 (1,6) em relação à testemunha (11,4; 49,9 e 2,6), respectivamente (Tabela 2).

199

200 Em campo, a biofumigação do solo com os óleos de palmarosa, laranja doce e
bergamota a 0,14%, não influenciou significativamente ($P \leq 0,05$) o crescimento das

201 plantas de pimentão quanto à biomassa fresca e seca da raiz e parte aérea (g/planta) e
202 produtividade média (g de fruto/planta), mas o óleo de palmarosa elevou
203 significativamente o número de frutos produzidos por planta (10,2) em relação à
204 testemunha (6,0).

205 A população de *Rs* CGM-8 no solo da rizosfera, ao final dos experimentos, não
206 variou significativamente ($P \leq 0,05$) entre os solos tratados com os óleos a 0,14% de
207 palmarosa ($4,64 \log \text{ UFC g solo}^{-1}$), laranja doce ($4,68 \log \text{ UFC g solo}^{-1}$) e bergamota
208 ($4,75 \log \text{ UFC g solo}^{-1}$), e a testemunha ($4,89 \log \text{ UFC g solo}^{-1}$).

209

210 **Efeito dos óleos essenciais nas características químicas do solo.** A análise inicial do
211 solo evidenciou $\text{pH} = 6,8$; $\text{P} = 25 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Na}^+ = 1,13 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{K}^+ = 3,12 \text{ cmol}_c$
212 dm^{-3} ; $\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2} = 6,60 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Ca}^{+2} = 2,30 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Al}^{+3} = 0,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ e
213 $\text{H} + \text{Al} = 2,93 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$.

214 O pH dos solos biofumigados com os doze óleos essenciais e testemunha não
215 diferiu significativamente ($P \leq 0,05$) em cada período de amostragem na casa de
216 vegetação. No entanto, ao longo do tempo, independente do tratamento, o pH dos solos
217 antes e até 1 h após a biofumigação, diferiu significativamente do pH dos solos aos
218 quatro e sete dias após a biofumigação, variando inicialmente de 7,51 a 7,81 e, após sete
219 dias de 6,68 a 7,24 (Fig. 1).

220 Os níveis de P , K^+ , $\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}$, Ca^{+2} , Al^{+3} e $\text{H} + \text{Al}$ não diferiram
221 significativamente ($P \leq 0,05$) entre os solos tratados com os óleos de bergamota, laranja
222 doce e palmarosa, e a testemunha, ao final dos experimentos em casa de vegetação. No
223 entanto, os solos tratados com óleos de bergamota ($0,98 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) e laranja doce ($0,63$
224 $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), apresentaram maiores níveis de Na^+ em relação a testemunha ($0,08 \text{ cmol}_c$

225 dm^{-3}) e aos solos tratados com palmarosa ($0,05 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$), os quais não diferiram entre
226 si.

227 Em campo, também não houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) para os níveis de
228 P, K^+ , $\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}$ e Ca^{+2} , inclusive de Na^+ , quanto aos diferentes tratamentos do solo
229 com os óleos essenciais de bergamota, laranja doce e palmarosa a 0,14% e testemunha.

230

231 **Sensibilidade *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* aos óleos essenciais.** O crescimento
232 de *Rs* CGM-8 foi significativamente reduzido pelo óleo essencial de palmarosa (Fig. 2),
233 com populações de $4,91 \text{ log UFC ml}^{-1}$ em relação à testemunha ($7,34 \text{ log UFC ml}^{-1}$).

234

235 **DISCUSSÃO**

236

237 De modo geral, apenas o óleo de palmarosa aplicado por biofumigação do solo,
238 em casa de vegetação e campo foi eficiente no controle da murcha bacteriana do
239 pimentão. O controle desta doença é muito difícil, devido a diversidade infraespecífica e
240 ampla gama de hospedeiros de *Rs*, além da sobrevivência deste patógeno no solo por
241 longos períodos e grandes profundidades (Cerkauskas, 2004).

242 A aplicação do óleo essencial de palmarosa por biofumigação reduziu o IMB (60
243 e 36%) e AACPD (64,4 e 38%), respectivamente em casa de vegetação e campo. A
244 biofumigação tem sido a forma mais comum de aplicação de óleos essenciais no
245 controle da murcha bacteriana em diversos patossistemas tais como, tomate (Huang e
246 Lakshman, 2010; Ji *et al.*, 2005; Pradhanang *et al.*, 2003), gerânio (Huang e Lakshman,
247 2010) e gengibre (Paret *et al.*, 2010), sendo uma alternativa para o manejo de doenças
248 causadas por patógenos habitantes do solo, em substituição ao brometo de metila, já
249 abolido pelo Protocolo de Montreal (Rosskopf *et al.*, 2005). Em tomateiro cultivado em

250 casa de vegetação, dentre diversos óleos testados para o controle da murcha bacteriana
251 por biofumigação, os de palmarosa e tomilho apresentaram 100% de controle, num
252 primeiro experimento, embora apenas o de palmarosa tenha mantido a incidência da
253 murcha (20%) significativamente mais baixa, num segundo experimento (Pradhanang *et*
254 *al.*, 2003). Em campo, o óleo de tomilho foi mais eficiente que o de palmarosa, e as
255 incidências da murcha em tomateiro foram de 33,1% e 48,1%, respectivamente (Ji *et al.*,
256 2005).

257 O crescimento e produtividade das plantas de pimentão após a biofumigação do
258 solo com os óleos de palmarosa, laranja doce e bergamota, não foram influenciados. No
259 entanto, houve aumento na quantidade de frutos produzidos por planta em solo tratado
260 com óleo de palmarosa, denotando que a planta além de ter a incidência e a severidade
261 da doença reduzidas, conseguiu finalizar seu ciclo e produzir tanto quanto a planta
262 sadia. Note-se, porém, que a média do peso dos frutos para a cv. Impacto (30,5 g),
263 inclusive na testemunha, foi menor do que o padrão de peso de fruto do pimentão verde
264 comercial que é de 250 a 300 g (Seminis, 2012). Isto pode ser explicado pela ocorrência
265 de temperaturas superiores a 35° durante o cultivo, as quais segundo Henz *et al.* (2007),
266 prejudicam o pegamento e desenvolvimento dos frutos. De forma similar, plantas de
267 gengibre também não foram afetadas quanto ao crescimento e produtividade, quando
268 plantadas em solos tratados com óleos essenciais de capim limão, eucalipto globulus e
269 palmarosa, visando o controle da murcha bacteriana (Paret *et al.*, 2010).

270 Ao final dos experimentos em campo, *Rs* CGM-8 foi detectada na rizosfera de
271 plantas em solos tratados com os óleos essenciais de palmarosa, bergamota e laranja
272 doce. No entanto, Pradhanang *et al.* (2003) relataram o declínio de populações de *Rs*
273 raça 1 a níveis indetectáveis em solos tratados com óleo de tomilho, palmarosa e capim
274 limão em vasos com tomateiros. Adicionalmente, populações de *Rs* raça 4 não foram

275 detectadas por imunotiras ou plaqueamento em meio SMSA em solos biofumigados
276 com os óleos de palmarosa e capim limão, após a retirada de plantas de gengibre (Paret
277 *et al.*, 2010). No presente trabalho, a quimiotaxia exercida por diversos aminoácidos,
278 ácidos orgânicos e, especificamente, pelos exsudatos das raízes de plantas hospedeiras,
279 pode explicar a sobrevivência de *Rs* na rizosfera e solo circundante (Álvarez *et al.*,
280 2010).

281 O pH dos solos tratados com os doze óleos essenciais e testemunha não diferiu
282 significativamente em cada período de amostragem (Fig. 1). Isto é importante, pois
283 reações do solo dependentes do pH não serão influenciadas pela biofumigação. Sabe-se
284 que *Rs* pode ser cultivada em pHs de 5,6 a 8,4 (Kelman, 1953), faixa mais ampla do que
285 a encontrada neste experimento, sendo que os pHs 3, 10 e 11 suprimem o seu
286 crescimento (Michel e Mew, 1998). Em solos condutivos, *Rs* sobreviveu melhor na
287 faixa de pH entre 5,2 e 6,1, a qual influenciou diferentes reações biológicas inclusive a
288 sobrevivência de outros microrganismos no solo (Félix *et al.*, 2012). A elevação
289 demasiada do pH pode reduzir a sobrevivência desta bactéria, como ocorre em solos
290 modificados com uréia e óxido de cálcio (Michel e Mew, 1998). No presente trabalho, a
291 mudança de pH do solo de 7,66 para 6,96 não foi suficiente para favorecer as
292 populações de *Rs*. Neste caso, a redução da severidade da murcha bacteriana pode ser
293 explicada por outros efeitos.

294 Não foram observadas alterações nos níveis dos nutrientes analisados no solo ao
295 final dos experimentos, exceto elevação do Na⁺ em casa de vegetação para os óleos de
296 bergamota e laranja doce, o que correspondeu à redução de severidade da murcha
297 (Tabela 1). *Rs* suporta níveis de NaCl em meio de cultura líquido de até 2% (Álvarez *et*
298 *al.*, 2010) e sua sobrevivência em areia diminui à medida que aumentam os níveis de
299 NaCl (0,03 a 0,20M), em efeito dose-dependente (Cheng e Chu, 2009). Nas zonas

300 costeiras da Holanda, a água do mar utilizada para irrigação é prejudicial à
301 sobrevivência de *Rs* biovar 2 (Van Elsas *et al.*, 2000). Além disso, *Rs* pode entrar em
302 estágio *viável mas não cultivável* (VMNC) em resposta a solução salina, entre outros
303 fatores (Grey e Steck, 2001).

304 *In vitro* o óleo de palmarosa foi o mais eficiente na redução do crescimento de
305 *Rs* CGM-8 (Fig. 2). O crescimento de *Rs* raças 1 e 4 foi inibido com diversos óleos
306 essenciais entre os quais palmarosa, capim limão (Paret *et al.*, 2010), citronela, alecrim,
307 erva-cidreira (Amorim *et al.*, 2011; Martins *et al.*; 2009; 2011), cravo e gengibre
308 (Amorim *et al.*, 2011). A ação direta desses óleos sobre o patógeno indica que possuem
309 substâncias voláteis com ação antimicrobiana em sua composição, atuando no processo
310 de biofumigação. O óleo de palmarosa possui como principal constituinte o
311 monoterpenóide geraniol (73-80%), um composto com atividade antimicrobiana
312 (Jirovetz *et al.*, 2006). Este composto, também presente em outras espécies botânicas, já
313 inibiu o crescimento de *Rs* (Lee *et al.*, 2012); *Erwinia amylovora* (Scortichini e Rossi,
314 2008); *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Costa *et al.*, 2008; Dorman e
315 Deans, 2000; Rasoul *et al.*, 2012) e *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium*
316 *tumefaciens*) (Rasoul *et al.*, 2012). Os monoterpenos apresentam caráter lipofílico,
317 agindo contra a membrana celular dos microrganismos, causando ruptura e alteração no
318 transporte de moléculas, inibição da atividade enzimática e coagulação do conteúdo
319 citoplasmático (Sikkema *et al.*, 1995).

320 A biofumigação do solo é uma alternativa para o manejo de fitobacterioses, em
321 substituição ao brometo de metila. Considerando que o óleo essencial de palmarosa
322 reduziu a severidade da murcha bacteriana do pimentão em casa de vegetação e em
323 campo; não foi prejudicial ao crescimento da planta e até elevou o número de frutos por
324 planta; não afetou o pH do solo durante o processo de biofumigação nem alterou as

325 características do solo biofumigado; e teve ação direta reduzindo o crescimento da *Rs*,
326 conclui-se que: a biofumigação com o óleo de palmarosa é uma potencial alternativa
327 para o controle da murcha bacteriana do pimentão.

328

329 **AGRADECIMENTOS**

330 Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de auxílio financeiro (Proc.
331 309.697/2011-5) e ao CNPq e FACEPE pelas bolsas concedidas.

332

333 **REFERÊNCIAS**

334

335 Agrarianal. Anuário da Agricultura Brasileira, 2012. *Pimentão*. pp. 408-410. Informa

336 Economics FNP, São Paulo, Brasil.

337 Álvarez B., Biosca E.G., López M.M., 2010. On the life of *Ralstonia solanacearum*, a
338 destructive bacterial plant pathogen. *Current research, technology and education*
339 *topics in applied microbiology and microbial biotechnology* **1**:267-279.

340 Amorim E.P.R., Andrade F.W.R., Moraes E.M.S., Silva J.C., Lima R.S., Lemos E.E.P.,
341 2011. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o
342 desenvolvimento de *Ralstonia solanacearum* em mudas de bananeira. *Revista*
343 *Brasileira de Fruticultura* **Volume Especial**:392-398.

344 Baptista M.J., Lopes C.A., Souza R.B., Furumoto O., 2006. Efeito da solarização e
345 biofumigação, durante o outono, na incidência de murcha bacteriana e produtividade
346 da batata. *Horticultura Brasileira* **24**:99-102.

347 Ceasa/PE – Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco, 2012. Comparativo
348 dos preços (mais comum) em nível de atacado. Comparativo mensal Fevereiro/2012.
349 *Publicação on line*.

- 350 Cerkauskas R., 2004. Pepper diseases, Bacterial wilt. Shanhua, Tainan: AVRDC - The
351 World Vegetable Center. Fact Sheet, *AVRDC Publication* **04-573**:1-2.
- 352 Cheng C.P., Chu Y.J., 2009. Effects of Stress Factors on the Multiplication and Survival
353 of a Taiwan *Ralstonia solanacearum* Tomato Strain. *Taiwania* **54**: 37-44.
- 354 Costa C.M.G.R., Santos M.S., Barros H.M.M., Agra P.F.M, Farias M.A.A., 2008. Óleo
355 essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*.
356 *Tecnologia & Ciência Agropecuária* **2**:11-14.
- 357 Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial
358 activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* **88**:308-316.
- 359 Elphinstone J.G., Hennessy J., Wilson J.K.; Stead D.E., 1996. Sensitivity of different
360 methods for the detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tuber extracts.
361 *OEPP/EPPO Bulletin* **26**:663-678.
- 362 Embrapa, 1999. Manual de análise química dos solos, plantas e fertilizantes. 2.ed.
363 Centro Nacional de Pesquisa do Solo, Rio de Janeiro, Brasil.
- 364 Empig L.T., Calub A.G., Katigbak M.M., Deanon Júnior J.R., 1962. Screening tomato,
365 eggplant and pepper varieties and strains for bacterial wilt (*Pseudomonas*
366 *solanacearum*) resistance. *Phillippine Agriculturist* **46**:303-314.
- 367 Félix K.C.F., Souza E.B., Michereff S., Mariano R.L.R., 2012. Survival of *Ralstonia*
368 *solanacearum* in infected tissues of *Capsicum annuum* and in soils of the state of
369 Pernambuco, Brazil. *Phytoparasitica* **40**:53-62.
- 370 Garcia A.L., 2011. Diversidade populacional de *Ralstonia solanacearum* em pimentão
371 no estado de Pernambuco e controle da murcha bacteriana. Ph.D. Tese. Universidade
372 Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

- 373 Grey B.E, Steck T.R., 2001. The viable but nonculturable state of *Ralstonia*
374 *solanacearum* may be involved in long-term survival and plant infection. *Applied*
375 *and Environmental Microbiology* **67**:3866-3872.
- 376 Hayward A.C., 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by
377 *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* **29**:65-87
- 378 Henz G.P., Costa C.S.R. da, Carvalho S., Banci C.A., 2007. Caderno Técnico: Como
379 cultivar pimentão. *Revista Cultivar Hortaliças e Frutas* **42**:1-6.
- 380 Huang Q., Lakshman D.K., 2010. Effect of clove oil on plant pathogenic bacteria and
381 bacterial wilt of tomato and geranium. *Journal of Plant Pathology* **92**:701-707.
- 382 IBGE, 2006. Censo Agropecuário. Número de estabelecimentos por grupos de área
383 total, grupo de atividade econômica e condição do produtor. *Publicação on line*.
- 384 Ji P., Momol M.T., Olson S.M., Pradhanang P.M., Jones J.B., 2005. Evaluation of
385 thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under field conditions.
386 *Plant Disease* **89**:497-500.
- 387 Jirovetz L., Eller G., Buchbauer G., Schmidt E., Denkova Z., Stoyanova A., Nikolova
388 R., Geissler M., 2006. Chemical composition, antimicrobial activities and odor
389 description of some essential oils with characteristic floral-rosy scent and of their
390 principal aroma compounds. *Recent Research on Development Agronomy &*
391 *Horticulture* **2**:1-12.
- 392 Kelman A., 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*: a literature
393 review and bibliography. *North Caroline Agricultural Experimental Station*
394 *Technical Bulletin* **99**.
- 395 Kelman A., 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to
396 colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* **44**:693-695.

- 397 Kurozawa C., Pavan M.A., Krause-Sakate R., 2005. Doenças das solanáceas. In: Kimati
398 H., Amorin L., Bergamim Filho A., Camargo L.E.A., Rezende J.A.M. (eds). *Manual*
399 *de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas*. pp. 589-596. Editora Ceres, São
400 Paulo, Brasil.
- 401 Lee Y.H., Choi C.W., Kim S.H., Yun J.G., Chang S.W., Kim Y.S., Hong J.K., 2012.
402 Chemical pesticides and plant essential oils for disease control of tomato bacterial
403 wilt. *Plant Pathology Journal* **28**:32-39.
- 404 Martins E.S.C.S., Santos M.S., Barros H.M.M., Farias M.A.A., 2009. Atividade
405 antibacteriana de óleos essenciais de citronela, alecrim e erva-cidreira no controle da
406 bactéria *Ralstonia solanacearum* em tomateiro. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*
407 **3**:29-34.
- 408 Martins E.S.C.S., Farias M.A.A., Santos M.S., Barros H.M.M., 2011. Atividade
409 antimicrobiana de óleos essenciais no controle *in vitro* da *Ralstonia solanacearum*
410 em tubérculos de batata. *Tecnologia & Ciência Agropecuária* **5**:25-29.
- 411 Michel W., Mew T.W., 1998. Effect of a soil amendment on the survival of *Ralstonia*
412 *solanacearum* in different soils. *Phytopathology* **88**:300-305.
- 413 Nielsen L.W., Haynes F.L., 1960. Resistance in *Solanum tuberosum* to *Pseudomonas*
414 *solanacearum*. *American Potato Journal* **37**:260-267.
- 415 Paret M.L., Kratky B.A., Álvarez A.M., 2010. Effect of plant essential oils on *Ralstonia*
416 *solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. *Plant Disease* **94**:521-527.
- 417 Pradhanang P.M., Momol M.T., Olson S.M., Jones J.B., 2003. Effects of plant essential
418 oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in
419 tomato. *Plant Disease* **87**:423-427.

- 420 Rasoul M.A.A., Marei G.I.K., Abdelgaleil S.A.M., 2012. Evaluation of antibacterial
421 properties and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic bacteria.
422 *African Journal of Microbiology Research* **6**:3667-3672.
- 423 Rosskopf E.N., Chellemi D.O., Kokalis-Burelle N., Church G.T., 2005. Alternatives to
424 methyl bromide: A Florida perspective. *APSnet feature story. Online publication.*
- 425 Scortichini M., Rossi M.P. 2008. *In vitro* susceptibility of *Erwinia amylovora* (Burrill)
426 Winslow *et al.* to geraniol and citronellol. *Journal of Applied Microbiology* **71**:113-
427 118.
- 428 Schwan-Estrada K.R.F., Stangarlin J.R., Cruz M.E., 2003. Uso de plantas medicinais no
429 controle de doenças de plantas. *Anais do Congresso Brasileiro de Fitopatologia*
430 **36**:54-56.
- 431 Seminis. 2012. *Impacto*. <[http://www.seminis.com/global/br/products/Pages/Impacto.](http://www.seminis.com/global/br/products/Pages/Impacto.aspx)
432 [aspx](http://www.seminis.com/global/br/products/Pages/Impacto.aspx)>. *Online publication*
- 433 Shaner G., Finney R.E., 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of
434 slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* **67**:1051-1056.
- 435 Silveira E.B., Gomes A.M.A., Ferraz E., Maranhão E.A.A., Mariano R.L.R., 1999.
436 Identificação de progênies de tomateiro resistentes à murcha bacteriana. *Horticultura*
437 *Brasileira* **17**:6-10.
- 438 Sikkema J., de Bont J.A.M., Poolman B., 1995. Mechanisms of membrane toxicity of
439 hydrocarbons. *Microbiology Review* **59**:201-222.
- 440 Van Elsas J.D., Kastelein P., Van Bekkum P., Van der Wolf J.M., Vries P.M., Van
441 Overbeek L.S., 2000. Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, the causative
442 agent of potato brown rot, in field and microcosm soils in temperate climates.
443 *Phytopathology* **90**:1358-1366.

444 Wicker E., Grassart L., Coranson-Beaudu R., Mian D., Guilbaud C., Fegan M., Prior P.,
445 2007. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies)
446 exhibiting a new pathogenic potential. *Applied and Environmental Microbiology*
447 **73**:6790-6801.

Tabela 1. Redução da murcha bacteriana do pimentão pela biofumigação do solo com óleos essenciais, avaliada pelo período de latência (PL₅₀), índice de murcha bacteriana (IMB) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), em casa de vegetação.

Tratamento¹	PL₅₀²	IMB³	AACPD⁴
Palmarosa	6,6 ⁵ a*	18,5 d	3,1 d
Copaíba	6,4 ab	32,4 abcd	5,9 abcd
Eucalipto citriodora	6,1 ab	28,6 abcd	4,7 bcd
Bergamota	6,0 ab	22,9 cd	3,5 cd
Capim limão	5,9 ab	34,8 abcd	6,0 abcd
Laranja doce	5,9 ab	26,4 bcd	4,7 bcd
Canela	5,9 ab	37,1 abc	6,7 abc
Eucalipto globulus	5,9 ab	37,5 abc	6,6 abc
Sálvia esclareaia	5,7 ab	38,9 abc	7,0 ab
Funcho	5,6 b	37,9 abc	6,9 ab
Limão	5,6 b	45,5 a	7,8 ab
Hortelã	5,5 b	43,1 ab	7,3 ab
Testemunha	5,6 b	46,0 a	8,7 a
CV (%)	8,8	30,6	32,0

¹ Na biofumigação, os óleos essenciais foram emulsificados em Tween 20 (1:1, v:v) e misturados com água (0,14%). A emulsão foi adicionada e misturada ao solo infestado por *Ralstonia solanacearum* CGM-8. O solo foi incubado durante quatro dias em sacos plásticos transparentes e vedados. Plantas de pimentão com 21 dias foram transplantadas para vasos com solo infestado, sete dias após o tratamento;

² PL₅₀ = Período de latência, número de dias requeridos para o aparecimento de murcha em 50% das plantas;

³ IMB = Índice de murcha bacteriana, calculado segundo Empig *et al.* (1962);

⁴ AACPD = Área abaixo da curva de progresso da doença, calculada segundo Shaner e Finney (1977);

⁵ Média de 8 repetições. Valores são médias de dois experimentos.

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \geq 0,05$).

Tabela 2. Redução da murcha bacteriana do pimentão pela biofumigação do solo com óleos essenciais, avaliada pelo período de latência (PL₅₀), índice de murcha bacteriana (IMB) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), em campo.

Tratamento¹	PL₅₀²	IMB³	AACPD⁴
Palmarosa	15,7 ⁵ a*	32,3 b	1,6 b
Bergamota	13,6 ab	36,4 ab	1,8 ab
Laranja doce	13,0 b	38,5 ab	1,9 ab
Testemunha	11,4 b	49,9 a	2,6a
CV (%)	19,1	41,2	43,9

¹ Na biofumigação, os óleos essenciais foram emulsificados em Tween 20 (1:1, v:v) e misturados com água (0,14%). A emulsão foi adicionada e misturada ao solo infestado por *Ralstonia solanacearum* CGM-8. O solo foi incubado durante quatro dias em sacos plásticos transparentes e vedados. Plantas de pimentão com 21 dias foram transplantadas para vasos com solo infestado, sete dias após o tratamento;

² PL₅₀ = Período de latência, número de dias requeridos para o aparecimento de murcha em 50% das plantas;

³ IMB = Índice de murcha bacteriana, calculado segundo Empig *et al.* (1962);

⁴ AACPD = Área abaixo da curva de progresso da doença, calculada segundo Shaner e Finney (1977);

⁵ Média de 8 repetições. Valores são médias de dois experimentos.

* Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de LSD ($P \geq 0,05$).

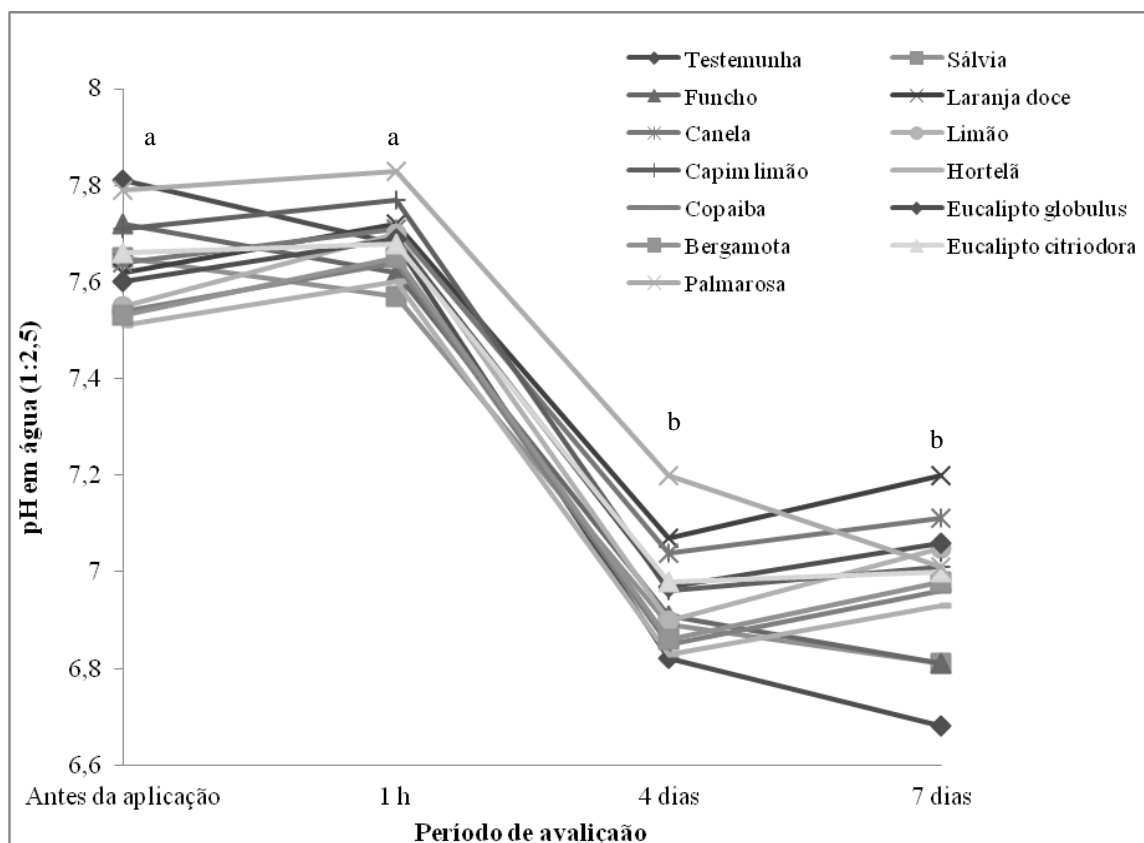


Fig. 1. Efeito da biofumigação com óleos essenciais vegetais no pH do solo, avaliado antes da aplicação dos óleos, 1 hora após e 4 e 7 dias após a aplicação.

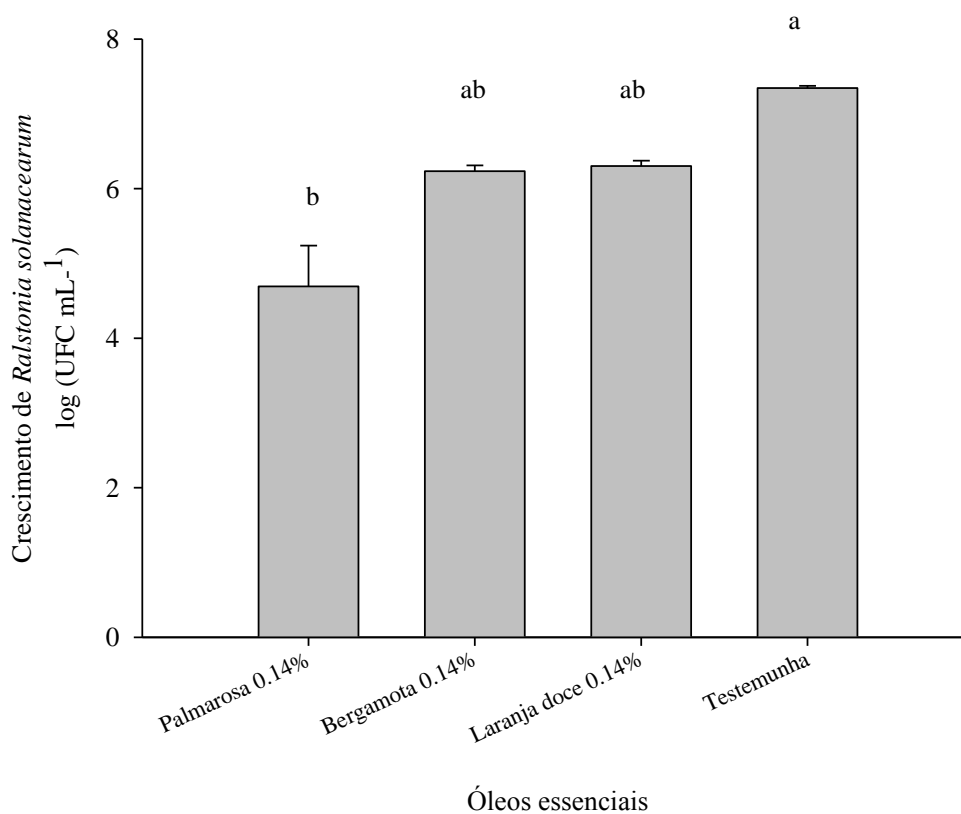


Fig. 2. Efeito de óleos essenciais vegetais no crescimento de *Ralstonia solanacearum* CGM-8 em meio de cultura, após 72 h de incubação, avaliado pela contagem de colônias em placas. Dados transformados em log (UFC ml⁻¹). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

CAPÍTULO III

REDUÇÃO DA SEVERIDADE DA MURCHA BACTERIANA DO PIMENTÃO MEDIADA PELO SILÍCIO

26 prováveis mecanismos de ação do Si foram ação direta sobre a colonização do
27 patógeno, ação indireta no desenvolvimento da planta, aumento na absorção de Ca^{+2} e
28 sinalização para produção de enzimas de defesa da planta. A produção de mudas de
29 pimentão em substrato contendo silicato de cálcio é uma prática que poderá ser
30 adicionada ao manejo da doença.

31 *Palavras-chave: Ralstonia solanacearum, silicato de cálcio, substrato, controle.*

32

33 **INTRODUÇÃO**

34

35 No Brasil, a murcha bacteriana do pimentão (*Capsicum annuum* L.) causada por
36 *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (*Rs*) é de importância limitada na
37 região Centro-Sul, mas tem grande incidência e severidade na região Amazônica e em
38 áreas de baixa altitude na região Nordeste (Takatsu e Lopes, 1997). Em Pernambuco, a
39 doença causa prejuízos econômicos nos municípios produtores das regiões Agreste e
40 Zona da Mata, onde se constatou a predominância do filotipo I, biovar 3, biotipo 8,
41 embora também tenham sido encontrados o filotipo II, biovar 1, biotipos 3 e 6 (Garcia,
42 2011).

43 O manejo da murcha bacteriana do pimentão é muito difícil, não existindo
44 medidas adequadas de controle curativo, devido à diversidade infraespecífica da
45 bactéria, ampla gama de hospedeiros, e sobrevivência no solo por longos períodos a
46 grandes profundidades, tornando o controle químico inviável e antieconômico
47 (Cerkaskas, 2004).

48 Uma medida alternativa para o controle de doenças de plantas é o aumento da
49 resistência mediante a nutrição mineral. O silício (Si), embora não seja considerado
50 essencial para o crescimento, promove o fortalecimento das plantas, por sua deposição,

51 acumulação e expansão na parede celular (Epstein, 1999). A indução de resistência com
52 envolvimento dos silicatos tem sido evidenciada pelo espessamento da parede celular,
53 aumento da lignificação, ativação de mecanismos específicos como a produção de
54 fitoalexinas (Fawe *et al.*, 2001), síntese de enzimas removedoras de espécies reativas de
55 oxigênio e proteínas relacionadas à patogênese (Chérif *et al.*, 1994; Datnoff *et al.*,
56 2001). Desta forma, o Si tem se destacado por reduzir a severidade de importantes
57 doenças de plantas, com resultados promissores no controle de fitobacterioses como a
58 mancha aquosa do meloeiro (Ferreira, 2009), mancha bacteriana do maracujazeiro
59 (Brancaaglione *et al.*, 2009), estria bacteriana do trigo (Silva *et al.*, 2010), mancha
60 angular do algodoeiro (Oliveira *et al.*, 2012) e murcha bacteriana do tomateiro (Ayana
61 *et al.*, 2011; Dannon e Wydra, 2004; Diogo e Wydra, 2007).

62 A redução da incidência da murcha bacteriana do tomateiro tanto em genótipos
63 suscetíveis como em moderadamente resistentes foi obtida pela adição do Si em solução
64 nutritiva, sendo a indução de resistência sugerida como mecanismo de ação, uma vez
65 que o aumento do conteúdo de Si na raiz correlacionou-se negativamente com a
66 população de *Rs* na parte aérea (Dannon e Wydra, 2004). Análises imuno-histoquímicas
67 evidenciaram que, após o tratamento de tomateiros com Si, houve uma indução de
68 resistência basal na parede celular envolvendo mudanças na estrutura de polissacarídeos
69 pécticos e, conseqüentemente, redução da colonização pela bactéria nos vasos do xilema
70 (Diogo e Wydra, 2007). Na Etiópia, a adubação com Si e bagaço de cana reduziram
71 significativamente a população de *Rs*, a incidência da murcha em tomateiro e a área
72 abaixo da curva de progresso da doença na cv. King Kong 2, moderadamente resistente,
73 mas não foram eficientes na cv. Marglobe, moderadamente suscetível (Ayana *et al.*,
74 2011).

75 A despeito da importância da murcha bacteriana do pimentão para o Norte e
76 Nordeste do Brasil, nenhuma pesquisa sobre a influência do Si neste patossistema tem
77 sido conduzida. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes
78 concentrações de Si no controle desta doença, verificando os possíveis mecanismos
79 envolvidos.

80

81 MATERIAL E MÉTODOS

82

83 **Incorporação de silício ao substrato.** Foi utilizado o substrato Mec Plant (Wolff
84 Klabin, Brasil), com as seguintes características: pH = 5,34; P disponível = 608 mg
85 dm^{-3} ; Na^+ = 1,06 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; K^+ = 2,49 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Ca^{+2} = 12,30 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Mg^{+2} =
86 16,7 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Al^{+3} = 0,70 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Si disponível = 13,4 mg dm^{-3} . O silicato de
87 cálcio (CaSiO_3) utilizado continha 16% de óxido de carbono (CaO) e 64% de óxido de
88 silício (SiO_2) (Ipiranga Chemical Co., Brasil). O silicato de cálcio foi incorporado ao
89 substrato nas doses de 0,00; 0,25; 0,50; 1,50 e 3,00 g de $\text{SiO}_2 \text{kg}^{-1}$ de substrato e os
90 teores de Ca de todas as concentrações foram nivelados com carbonato de cálcio
91 (CaCO_3 – 40% Ca, Sigma-Aldrich, USA) de modo que a única fonte de variação fossem
92 as doses de SiO_2 . O substrato foi incubado em sacos plásticos por 25 dias, mantido na
93 capacidade de campo e após o tratamento, distribuído em bandejas de poliestireno.

94

95 **Cultivo das plantas.** Sementes de pimentão híbrido cv. Enterprise (comercializada pela
96 Seminis, EUA), suscetível a *Rs* raça 1, foram semeadas em bandejas de poliestireno,
97 contendo o substrato com as diferentes concentrações de Si. As plantas foram mantidas
98 na capacidade de campo até o transplantio.

99

100 **Infestação do solo e transplantio.** O isolado de *Rs* CGM-8 (filotipo I, raça 1, biovar 3,
101 biotipo 8), foi obtido de coleção de cultura do Laboratório de Fitobacteriologia
102 (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil). Colônias
103 virulentas em meio TZC modificado (tetracloreto de trifenil tetrazólio) (Kelman, 1954)
104 foram transferidas para meio ágar nutritivo-dextrose-extrato de levedura (NYDA) (10 g
105 dextrose, 3 g extrato de carne, 5 g extrato de levedura, 3 g peptona e 18 g ágar l⁻¹) e
106 cultivadas por 48 h a 30 ± 2°C. A suspensão em água destilada esterilizada (ADE) foi
107 ajustada para 5x10⁸ UFC ml⁻¹ com fotocolorímetro (Analyser 500 M, Brasil). O solo foi
108 infestado com esta suspensão (30 ml kg⁻¹ de solo) e após sete dias, distribuído em vasos
109 plásticos de 500 ml. Plântulas com 21 dias, cultivadas em substrato com diferentes
110 doses de Si, foram transplantadas para estes vasos e irrigadas por subirrigação. A
111 temperatura da casa de vegetação variou de 25 a 40°C, com média de 33,5°C. O
112 delineamento experimental para cada cultivar foi inteiramente casualizado com quatro
113 repetições. Cada repetição foi constituída por cinco vasos com uma planta cada.

114

115 **Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão.**

116 As plantas foram avaliadas diariamente, durante 15 dias quanto à presença de sintomas
117 e severidade da doença com auxílio de escala de notas descritiva de 0 a 4 (Nielsen e
118 Haynes, 1960), onde: 0 = ausência de sintomas, 1 = plantas com 1/3 das folhas murchas,
119 2 = plantas com 2/3 das folhas murchas, 3 = plantas totalmente murchas e 4 = plantas
120 mortas. Com os dados obtidos foram determinados os seguintes componentes de
121 resistência da doença: a) período de latência (PL₅₀), número de dias requeridos para o
122 aparecimento de murcha em 50% das plantas inoculadas (Silveira *et al.*, 1999); b)
123 incidência (INC) da murcha bacteriana, determinada pela porcentagem de plantas
124 infectadas em relação ao total de plantas inoculadas; c) índice de murcha bacteriana

125 (IMB) aos 15 dias (Empig *et al.*, 1962) e d) área abaixo da curva de progresso da
126 doença (AACPD) (Shaner e Finney, 1977).

127

128 **Efeito do silício no desenvolvimento do pimentão.** Aos 36 dias após o plantio, as
129 plantas foram colhidas, separadas em parte aérea e raízes e pesadas em balança analítica
130 para obtenção da biomassa fresca da parte aérea (BFPA) e raiz (BFR). Após lavagem
131 em água destilada e secagem em estufa a 65°C por 72 h, as amostras foram pesadas
132 novamente para determinação da biomassa seca da parte aérea (BSPA) e raiz (BSR).

133

134 **Análise do tecido vegetal para cálcio, magnésio e silício.** Parte aérea e raízes de
135 plantas de pimentão secas em estufa a 65°C por 72 h foram moídas em micro moinho
136 tipo Willey (TF-648, Tecnal, Brasil). Após a digestão nitro-perclórica, os teores de Ca⁺²
137 e Mg⁺² foram determinados nos extratos por espectrofotometria de absorção atômica
138 (Embrapa, 1999) e o Si acumulado foi extraído (Korndörfer *et al.*, 2004).

139

140 **Atividade enzimática.** Para avaliar a atividade enzimática em plantas de pimentão, o
141 experimento foi realizado em casa de vegetação. Sementes de pimentão da cv.
142 Enterprise foram plantadas em substrato contendo 2,95 de SiO₂ g kg⁻¹ (Si+), obtida por
143 equação de regressão baseada nos dados coletados para severidade da doença. O
144 experimento foi conduzido da mesma forma que o de quantificação dos componentes de
145 resistência da murcha bacteriana do pimentão. As plantas foram cultivadas na presença
146 ou ausência de Si e após 21 dias transplantadas para solo infestado com *Rs* CGM-8. As
147 folhas foram coletadas aos 0 (1 h após o transplântio), 3 e 6 dias após o transplântio
148 (dat), imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C. O

149 experimento teve delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Cada
150 repetição foi constituída por cinco vasos com uma planta cada.

151 Para determinar a quantidade de proteínas totais solúveis e atividade enzimática,
152 0,2 g da biomassa de folhas de pimentão foram maceradas em nitrogênio líquido. Foram
153 acrescentados 4 ml do tampão fosfato de potássio (50 mM), pH 7,0, contendo KH_2PO_4 e
154 1 mM de EDTA. O concentrado foi colocado em tubos, os quais foram centrifugados
155 (10.000 g a 4°C, 10 min), sendo os extratos enzimáticos armazenados em tubos
156 eppendorf. A concentração de proteínas solúveis (mg g^{-1} matéria fresca – MF) em cada
157 amostra foi determinada pelo método colorimétrico (Bradford, 1976). A atividade da
158 catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi determinada pela metodologia descrita por Havir e
159 Mchale (1987). Para a determinação da atividade da ascorbato peroxidase (APX, EC
160 1.11.1.11) foi utilizada a metodologia de Nakano e Asada (1981) modificada por
161 Koshiba (1993). A atividade da Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) foi
162 determinada segundo Giannopolitis e Ries (1977) pela redução do azul de *p*-nitro
163 tetrazólio pelo extrato enzimático. As atividades da peroxidase (POX, EC 1.11.1) e
164 polifenoloxidase (PFO, EC 1.10.3.1) foram determinadas pela oxidação do pirogalol, de
165 acordo com Kar e Mishra (1976). A atividade de β -1,3-glucanases (GLU, EC 3.2.1.39)
166 foi determinada de acordo com Lever (1972) modificada por Miller (1956) utilizando-se
167 a degradação do substrato laminarina. Finalmente, a quitinase (QUI, EC 3.2.1.14) foi
168 determinada como descrito por Harman *et al.* (1993). Todas as atividades enzimáticas
169 foram medidas em $\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$.

170

171 **Efeito do silício sobre as características químicas do substrato.** Aos 25 dias após a
172 incorporação das diferentes doses de Si ao substrato foram determinados o pH, P
173 disponível (mg dm^{-3}), K^+ , $\text{Ca}^{+2}+\text{Mg}^{+2}$, Ca^{+2} , Na^{+2} , Al^{+3} trocáveis e acidez potencial

174 (H+Al) ($\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$) (Embrapa, 1999). O Si do substrato foi extraído pelo método do
175 ácido acético (CH_3COOH) (Korndörfer *et al.*, 2004).

176

177 **Inibição *in vitro* de *Ralstonia solanacearum*.** Alíquotas de 2 ml da suspensão de *Rs*
178 CGM-8 contendo 10^8 UFC ml^{-1} foram adicionadas a 98 ml de meio NYDA e
179 distribuídos em placas de Petri. Após a solidificação, discos de papel de filtro
180 embebidos nas soluções de Si (0,00; 0,25; 0,50; 1,50 ou 3,00 g de CaSiO_2) foram
181 depositados em quatro pontos equidistantes de cada placa de Petri, incubando-se a 30°C
182 por 48 h. O diâmetro do halo de inibição foi medido em duas direções perpendiculares e
183 o valor médio analisado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com
184 três repetições. Cada repetição foi constituída por uma placa com quatro discos de papel
185 de filtro.

186

187 **Análises estatísticas.** Para os componentes de resistência da murcha bacteriana e
188 promoção de crescimento do pimentão, foram realizadas análises de regressão,
189 desdobrando-se todos os graus de liberdade dos tratamentos em efeitos de regressão.
190 Para cada variável estudada, uma equação de regressão foi ajustada considerando-se os
191 efeitos quadráticos e/ou cúbicos significativos na análise de variância ($P \leq 0,05$). Os
192 experimentos foram conduzidos duas vezes e como foi detectada reprodutibilidade dos
193 resultados entre os experimentos, sem diferenças significativas, realizou-se análise
194 conjunta dos dados. Para as atividades enzimáticas, ANOVAs foram realizadas para
195 cada tempo de avaliação ($P \leq 0,05$); como só havia dois tratamentos, os resultados
196 obtidos com o teste F foram usados para expressar as diferenças entre as médias dos
197 tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Statistix
198 for Windows® (versão 9.0, Analytical Software Tallahassee).

199

200 **RESULTADOS**

201

202 **Quantificação dos componentes de resistência da murcha bacteriana do pimentão.**

203 A INC da doença não foi significativamente reduzida, variando de 87 a 100%. Os
204 primeiros sintomas foram observados como murcha das folhas inferiores três dias após
205 o transplântio. As análises de regressão (Fig. 1) mostraram efeito significativo ($P \leq 0,05$)
206 das diferentes doses de Si testadas para PL₅₀, IMB e AACPD. Na dose 3,00 g de SiO₂
207 kg⁻¹, o PL₅₀ apresentou aumentos máximos de 34,0% e redução de 63,0 e 47,4% no IMB
208 e AAACP, respectivamente. Baseado nas equações de regressão das variáveis, foi
209 determinada a doses de 2,95 de SiO₂ kg⁻¹ de substrato como a mais eficiente para o
210 manejo da murcha bacteriana do pimentão.

211

212 **Efeito do silício no desenvolvimento do pimentão.** Foram observadas diferenças
213 significativas ($P \leq 0,05$) entre doses de Si para as variáveis BFPA, BFR e BSPA, com
214 incrementos de até 121,8%, 83,6% e 84,9%, respectivamente. Não houve acréscimo
215 significativo para BSR (Fig. 2).

216

217 **Análise do tecido vegetal para cálcio, magnésio e silício.** A dose 3,00 de SiO₂ kg⁻¹ de
218 substrato aumentou o conteúdo de Ca⁺² na parte aérea em 34,8% e diminuiu o conteúdo
219 de Mg⁺² na parte aérea e raízes, 39,2 e 27,7%, respectivamente. O Si na parte aérea foi
220 significativamente maior ($P \leq 0,05$) na dose 1,50 de Si com aumento de 17,9%, enquanto
221 que nas raízes não foi evidenciado o acúmulo, embora na dose de 0,50 de Si houvesse
222 aumento de 16,4% (Fig. 3).

223

224 **Atividade enzimática.** Na parte aérea de plantas tratadas com Si (Si+) observou-se
225 aumento de proteínas totais em relação à testemunha não tratada (Si-), o qual foi
226 significativo aos 3 dat. Com relação às enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, a
227 atividade da CAT e APX foi significativamente aumentada em plantas Si+ nas três
228 avaliações, ocorrendo o inverso na expressão da SOD. Quanto às enzimas associadas à
229 defesa vegetal em plantas Si+, a POX teve aumento significativo aos 3 dat, enquanto
230 que a PFO não diferiu entre os tratamentos. A atividade da GLU foi significativamente
231 maior aos 3 e 6 dat, enquanto que a QUI foi maior nos três tempos de avaliação (Fig. 4).

232

233 **Efeito do silício sobre as características químicas do substrato.** As características
234 químicas do substrato (Si, P, Na⁺, K⁺ e Ca⁺²+Mg⁺²) cultivado com plantas de pimentão
235 foram modificadas significativamente (P≤0,05) pela adição de doses crescentes de Si.
236 Com a aplicação da dose 1,50 g SiO₂ kg⁻¹, o teor de Si no substrato foi elevado de 13,4
237 para 14,2 mg kg⁻¹, diferindo significativamente (P≤0,05) da testemunha, enquanto que o
238 conteúdo de P diminuiu. À medida que as doses de Si aumentaram, o pH, Na⁺ e K⁺
239 também aumentaram. Os teores de Ca⁺²+Mg⁺² não diferiram significativamente da
240 testemunha em todas as doses estudadas (Fig. 5).

241

242 **Efeito do silício sobre *Ralstonia solanacearum in vitro*.** As diferentes doses de CaSiO₂
243 não influenciaram o crescimento *in vitro* de *Rs*.

244

245 **DISCUSSÃO**

246

247 A aplicação de Si ao solo aumentou o PL₅₀ e diminuiu o IMB e a AACPD. A
248 melhor dose de Si, calculada pela regressão, foi 2,95 g de SiO₂ kg⁻¹ de substrato para a

249 cv. Enterprise, indicando o potencial do uso do Si no manejo da murcha bacteriana do
250 pimentão, pela produção de mudas silicatadas (Fig. 1). A quantidade de Si a ser aplicada
251 no solo precisa ser definida ou calculada com bastante critério, pois quanto mais Si for
252 absorvido pela planta, maiores são as chances de resultados promissores no controle de
253 doenças (Korndörfer *et al.*, 2004).

254 A INC da murcha bacteriana não foi influenciada pelo tratamento com Si, ao
255 contrário do que ocorreu com a severidade, representada pelo IMB e reduzida em até
256 63,0%. Redução similar (57,8%) de severidade da murcha foi obtida em tomateiro
257 ‘King Kong 2’, moderadamente resistente, tratado com silicato de fósforo por Ayana *et*
258 *al.* (2011). É importante salientar que este nível de controle não ocorreu em genótipo
259 moderadamente suscetível (L390), que mais se assemelha a cultivar estudada neste
260 trabalho. Da mesma forma, a redução de AACPD obtida foi maior que a dos tomateiros
261 L390 (26,8%) e King Kong 2 (56,1%) tratados com ácido monossilícico em hidroponia
262 (Dannon e Wydra, 2004); e Hawaii 7998 resistente (100%) e ‘King Kong 2’ (38%)
263 cultivados em substrato diariamente suplementado com ácido monossilícico em solução
264 nutritiva (Diogo e Wydra, 2007).

265 O Si também promoveu um incremento significativo na biomassa fresca e seca
266 da parte aérea e raízes de plantas de pimentão (Fig. 2). Sabe-se que planta bem nutrida é
267 mais resistente a doenças. A influência do Si pode ser observada no aumento do efeito
268 dos fatores de resistência em genótipos moderadamente resistentes, no aumento do
269 período de incubação em genótipos moderadamente suscetíveis e, no aumento de
270 biomassa fresca e seca em genótipos resistentes, nos quais os sintomas não são
271 observados (Dannon e Wydra, 2004). Plantas de tomateiros ‘King Kong 2’ e ‘Hawaii
272 7998’ apresentaram valores de BSPA significativamente maiores quando tratadas com
273 Si, e plantas do genótipo suscetível L390 apresentaram aumento na biomassa seca de

274 243% em relação às plantas inoculadas não tratadas (Diogo e Wydra, 2007). Neste
275 trabalho, o percentual de aumento da BSPA para a cv. Enterprise (84,9%) foi menor que
276 os encontrados em tomateiro (Diogo e Wydra, 2007). Isto pode ser explicado, pois essas
277 plantas foram cultivadas no substrato contendo Si apenas pelo tempo suficiente para o
278 preparo da muda, enquanto que, no outro trabalho, a aplicação foi em hidroponia.

279 A importância do Si na disponibilização do Ca^{+2} para o pimentão é importante,
280 não só do ponto de vista da nutrição da planta, mas principalmente pela correlação que
281 se pode fazer com a redução da severidade da murcha bacteriana. Isto fica comprovado,
282 pois nos níveis de $3,0 \text{ g SiO}_2 \text{ kg}^{-1}$ de substrato foi observado o maior teor de Ca^{+2} na
283 parte aérea e houve maior redução da doença. Deficiência de cálcio em tomateiros
284 aumentou a susceptibilidade das cvs. Santa Cruz (susceptível) e Yoshimatsu (resistente)
285 à murcha bacteriana (Cavalcante *et al.*, 1995). Este nutriente estimula a síntese de
286 proteínas e reduz a atividade de poligalacturonases produzidas pelo patógeno,
287 dificultando a decomposição de substâncias pécticas do tecido do hospedeiro
288 (Chaboussou, 1995).

289 Na parte aérea, a dose $1,50 \text{ g SiO}_2 \text{ kg}^{-1}$ de substrato proporcionou maior
290 conteúdo de Si em base seca ($0,46 \text{ mg dm}^{-3}$ de Si) (Fig. 3E). O Si depositado na parte
291 aérea modifica a distribuição de manganês reduzindo sua toxidez; aumenta a resistência
292 aos estresses abióticos como o salino, hídrico ou por excesso de nitrogênio; reduz a
293 transpiração; e melhora a arquitetura das folhas tornando-as mais eretas. Esse elemento
294 ainda promove o fortalecimento do caule, prevenindo o tombamento (Ma *et al.*, 2001).

295 Quanto a concentração de Si nos tecidos, as plantas podem ser classificadas em
296 acumuladoras de Si, aquelas que possuem teor foliar acima de 1% ou mg dm^{-3} , ou não
297 acumuladoras, plantas com teor foliar de Si menor que 0,5%. Porém, o conteúdo total
298 de Si nas plantas varia de 0,1 a 10% em base seca, concentrando-se em tecidos de caule

299 e folhas, e em pequenas quantidades nos grãos (Ma *et al.*, 2001). Não há relatos de
300 plantas de pimentão como acumuladoras de Si, no entanto plantas de tomateiro,
301 pertencente à mesma família botânica, são consideradas não acumuladoras, com
302 concentrações de 0,03 a 0,05% em folhas jovens (Korndörfer *et al.*, 2004). Pelo presente
303 trabalho infere-se que o pimentão é uma planta não acumuladora de Si.

304 Nas raízes, a dose 0,50 g SiO₂ kg⁻¹ promoveu um aumento de 1,28 mg dm⁻³ de Si
305 (Fig. 3F). De modo geral, o conteúdo médio de Si nas raízes é menor que o do caule e
306 folhas, embora na soja ocorra o inverso (Oliveira e Castro, 2002). O Si absorvido nas
307 raízes é transportado para parte aérea, onde se deposita intra ou extracelularmente nos
308 tecidos como sílica amorfa hidratada (SiO₂*n*H₂O) (Currie e Perry, 2007). Existe a
309 hipótese da formação de barreira física, fundamentada na forma do Si acumular-se nas
310 plantas, sendo transportado por um movimento ascendente via apoplasto desde as raízes
311 até as folhas. O Si pode se polimerizar nos espaços extracelulares, acumulando-se nas
312 paredes das células epidérmicas das folhas e dos vasos do xilema (Fawe *et al.*, 2001).

313 Plantas de pimentão Si⁺ apresentaram aumento de proteínas totais, aos 3 dat
314 (Fig. 4A). Esse aumento pode ser explicado pelo acúmulo de proteínas ligadas à reação
315 de hipersensibilidade ou relacionadas à patogênese, expressas pelos mecanismos de
316 defesa ativadas não apenas no sítio de indução, como também em outros locais distantes
317 dele, de forma mais ou menos generalizada (Resende *et al.*, 2000). Mesmo não tendo
318 sido detectado acúmulo considerável de Si na parte aérea de plantas de pimentão, sabe-
319 se que em plantas não acumuladoras e incapazes de transportar Si através das raízes,
320 esse elemento pode desempenhar um papel indireto, induzindo enzimas degradadoras de
321 parede celular de patógenos e também enzimas removedoras de espécies reativas de
322 oxigênio (EROs) (Datnoff *et al.*, 2001). O Si pode possuir um papel ativo na
323 potencialização e antecipação (*priming*) da expressão de genes que codificam enzimas

324 em plantas de tomateiro inoculadas com *Rs*, demonstrando o papel deste elemento na
325 defesa da planta em nível transcricional (Ghareeb *et al.*, 2011).

326 A atividade das enzimas CAT e APX foi significativamente aumentada em
327 plantas de pimentão Si⁺ (Fig. 4B e C). A CAT está presente nos peroxissomas e
328 glioxissomas das plantas e pode dismutar diretamente o H₂O₂, em água e oxigênio, ou
329 oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico. Pode exercer
330 uma função de lignificação, mas sua exata função biológica permanece desconhecida
331 (Resende *et al.*, 2003). A superexpressão da APX em plantas de fumo transgênicas, pela
332 inserção do gene da ascorbato peroxidase de pimentão (CAPOA1), promoveu
333 resistência a *Phytophthora nicotianae* e fraca resistência a *Rs* (Sarowar *et al.*, 2005).
334 Essa enzima é responsável pela retirada de espécies reativas de oxigênio (EROs),
335 principalmente H₂O₂, utilizando o ascorbato como um doador de elétrons (Noctor e
336 Foyer, 1998). Estes radicais podem oxidar todos os componentes celulares, causando
337 dano celular (Asada e Takahashi, 1987). Essa enzima também é relatada como uma
338 importante defesa da célula vegetal, protegendo-a dos patógenos através da resistência
339 sistêmica adquirida (Kvaratskhelia *et al.*, 1997). A atividade da SOD (Fig. 4D) foi
340 menor em plantas Si⁺ o que sugere que a CAT atuou mais efetivamente na remoção do
341 H₂O₂. A SOD, por sua vez, é encontrada nos cloroplastos e catalisam a conversão de
342 radicais superóxido (O₂⁻) a H₂O₂ (Mittler, 2002).

343 Em plantas Si⁺ foi observado aumento na atividade da enzima POX (Fig. 4E).
344 Resultados semelhantes foram obtidos em plantas de tomateiro pulverizadas com Supa
345 Sílica[®] e com silicato de cálcio (Andrade, 2012). Essa enzima é responsável pelos
346 processos fisiológicos e bioquímicos como crescimento, formação celular, desenvolvimento
347 de frutos, biossíntese de etileno e resposta a vários estresses (Matamoros *et al.*, 2003), e

348 em plantas de tomateiro, está envolvida na última etapa de lignificação da parede celular
349 (Nicholson e Hammerschmidt, 1992).

350 Houve aumento na atividade de GLU e QUI em plantas Si⁺ (Fig. 4G e H). A β-
351 1,3-glucanase é uma proteína relacionada à patogênese, que possui atividade hidrolítica,
352 exercendo o controle de doenças mediante a quebra de polímeros estruturais (β-1,3-
353 glucanos) presentes nas paredes dos patógenos e liberando oligossacarídeos
354 biologicamente ativos (elicitores e supressores) capazes de regular o estado de
355 imunização da planta (Labanca, 2002). Resultados semelhantes foram encontrados no
356 uso do Si para controle da mancha angular do algodoeiro (Oliveira *et al.*, 2012) e de
357 *Pytium aphanidermatum* em pepino (Chérif *et al.*, 1994). Já a QUI catalisa a hidrólise
358 da quitina (polímero de *N*-acetilglucosamina), componente da parede celular fúngica e
359 exoesqueleto de artrópodes (Wen-Chi *et al.*, 1998).

360 O teor de Si no substrato foi elevado em 46,4% após a aplicação da dose 1,50 g
361 SiO₂ kg⁻¹ e cultivo com pimentão. Isto pode ser explicado pela absorção do Si pelas
362 plantas. Solos com valores inferiores a 18 mg kg⁻¹ são os que mais frequentemente
363 respondem à aplicação de silicatos (Korndörfer e Lepsch, 2001). Como não foi
364 constatado efeito fitotóxico do Si, o seu uso deve levar em consideração o efeito
365 corretivo e o custo/benefício (De Datta, 1981). A adição de Si ao substrato de preparo
366 das mudas de pimentão revelou-se uma medida cultural muito prática, que poderá ser
367 facilmente integrada ao manejo da cultura, desde que adaptações sejam realizadas em
368 relação ao tipo de substrato e cultivar utilizada naquele sistema de plantio.

369 À medida que as doses de Si foram elevadas, aumentaram também os níveis de
370 pH e os teores de Na⁺ e o K⁺ no substrato. O pH do solo pode ser corrigido pela
371 utilização de silicatos, que atuam de forma semelhante ao carbonato de cálcio e
372 magnésio, reduzindo os teores de H⁺Al e neutralizando o Al⁺³ trocável (Epstein, 1999).

373 Já o conteúdo de P foi reduzido em diferentes concentrações de Si no substrato (Fig.
374 5C). Teores de P também diminuíram em solos tratados com Si para a produção de
375 braquiária (Souza *et al.*, 2005).

376 O silicato de cálcio não inibiu o crescimento de *Rs* CGM-8 em meio de cultura,
377 em nenhuma das concentrações testadas, o que indica ausência de efeito bactericida ou
378 bacteriostático desse elemento sobre este patógeno. Resultados semelhantes foram
379 obtidos com as mesmas doses e fonte de Si para *X. citri* subsp. *malvacearum* (Oliveira
380 *et al.*, 2012) e *Acidovorax citrulli* (Ferreira, 2009). No entanto, argila silicatada e Supa
381 Silica[®] foram capazes de inibir o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*
382 (Brancaçione *et al.*, 2009) e *P. syringae* pv. *tomato* (Andrade, 2012) *in vitro*.

383 No presente trabalho, o patógeno não foi inibido *in vitro* pelo silicato de cálcio,
384 mas a aplicação desta fonte de Si no substrato reduziu a severidade da murcha
385 bacteriana. Portanto, os prováveis mecanismos de ação do Si foram: ação direta,
386 depositando-se em tecidos e impedindo a colonização do patógeno, e ação indireta no
387 desenvolvimento da planta, aumentando a biomassa; a absorção de Ca^{+2} ; e sinalizando
388 para produção de enzimas removedoras de espécies reativas de oxigênio e proteínas
389 envolvidas na patogênese. Com base nos resultados obtidos, a produção de mudas em
390 substrato contendo silicato de cálcio na dose de $2,95 \text{ g SiO}_2 \text{ kg}^{-1}$ de substrato é uma
391 prática cultural que poderá ser adicionada com sucesso ao manejo da murcha bacteriana
392 do pimentão.

393

394 **AGRADECIMENTOS**

395 Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de auxílio financeiro (Proc.
396 309.697/2011-5) e ao CNPq e FACEPE pelas bolsas concedidas.

397

398 **REFERÊNCIAS**

399

400 Andrade C.L., 2012. Silício e indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do
401 tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. Mestrado. Dissertação. Universidade
402 Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

403 Asada K., Takahashi M., 1987. Production and scavenging of active oxygen in
404 photosynthesis. In: Kyle D.J., Osmond C.B., Arntzen C.J. (Eds.), Topics in
405 Photosynthesis, v. 9, pp. 227-288. Elsevier, Amsterdam

406 Ayana G., Fininsa C., Ahmed S., Wydra K., 2011. Effects of soil amendment on
407 bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and tomato yields in Ethiopia.
408 *Journal of Plant Protection Research* **51**:72-76.

409 Brancaglione P., Sampaio A.C., Fischer I.H., Almeida A.M., Fumis T.F., 2009.
410 Eficiência de argila silicatada no controle de *Xanthomonas axonopodis* pv.
411 *passiflorae*, *in vitro* e em mudas de maracujazeiro-amarelo. *Revista Brasileira de*
412 *Fruticultura* **31**:718-724.

413 Bradford M.N., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
414 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical*.
415 *Biochemistry* **72**:248-254.

416 Cavalcante E.B., Mariano R.L.R., Leite J.P., Coelho R.S.B., 1995. Influence of mineral
417 nutrition on the reaction of tomato cvs. Yoshimatsu and Santa Cruz to *Pseudomonas*
418 *solanacearum*. *Bacterial Wilt Newsletter* **12**:3-8.

419 Cerkauskas R., 2004. Pepper diseases, Bacterial wilt. Shanhua, Tainan: AVRDC - The
420 World Vegetable Center. Fact Sheet, *AVRDC Publication* **04-573**:1-2.

421 Chérif M., Asselin A., Bélanger R.R., 1994. Defense responses induced by soluble
422 silicon in cucumber roots infected by *Pythium* sp. *Phytopathology* **84**:236-242.

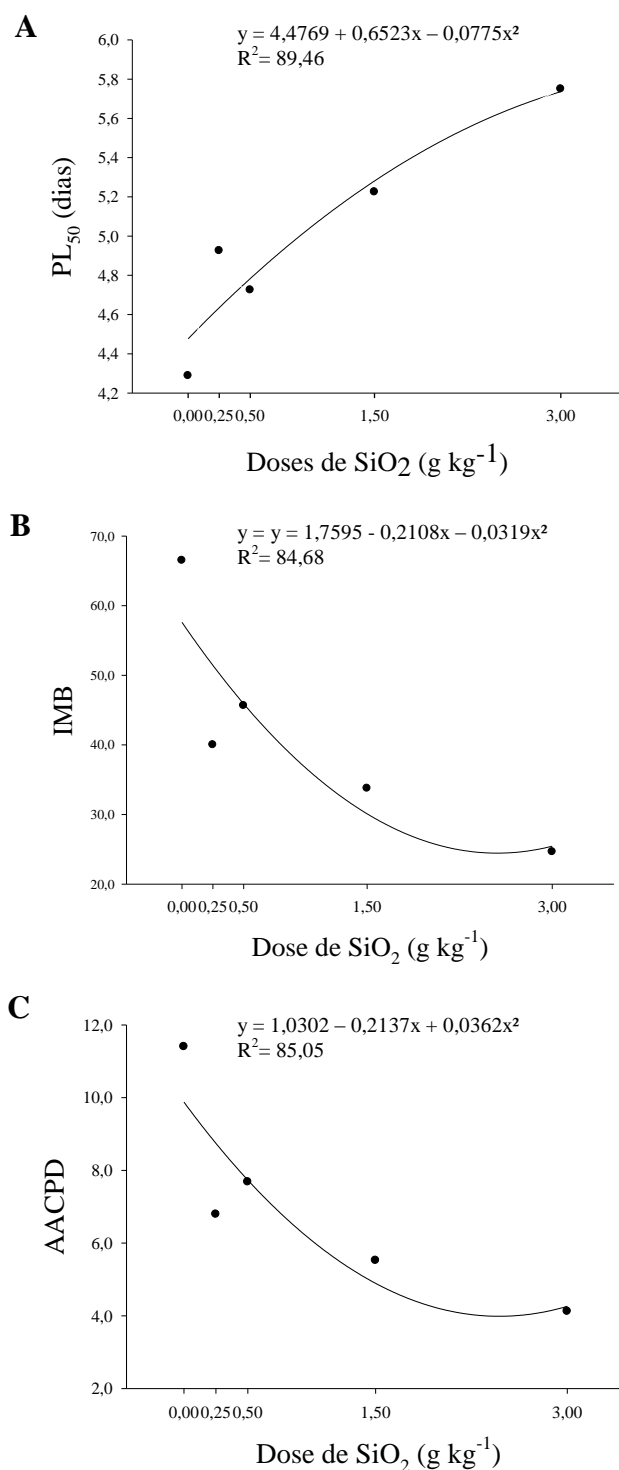
- 423 Chaboussou F., 1995. Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose.
424 253 pp. L&PM, Porto Alegre, L e PM, Brasil.
- 425 Currie H.A., Perry C., 2007. Silica in plants: biological, biochemical and chemical
426 studies. *Annals of Botany* **1**:7.
- 427 Dannon E., Wydra K., 2004. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt
428 development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes.
429 *Physiological and Molecular Plant Pathology* **64**:233-243.
- 430 Datnoff L.E., Seebold K.W., Correa V.F.J., 2001. The use of silicon for integrated
431 disease management: reducing fungicide applications and enhancing host plant
432 resistance. In: Datnoff L.E., Snyder G.H., Korndörfer G.H. (eds.) *Silicon in*
433 *Agriculture*. v. 8, pp. 171-183. Elsevier Science, Amsterdam.
- 434 De Datta S.K., 1981. Principles and practices of rice production. New York, Wiley-
435 Interscience Publications.
- 436 Diogo R.V.C., Wydra K., 2007. Silicon-induced basal resistance in tomato against
437 *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polisaccharide
438 structure. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **70**:120-129.
- 439 Embrapa, 1999. Manual de análise química dos solos, plantas e fertilizantes. 2.ed.
440 Centro Nacional de Pesquisa do Solo, Rio de Janeiro, Brasil.
- 441 Empig L.T., Calub A.G., Katigbak M.M., Deanon Júnior J.R., 1962. Screening tomato,
442 eggplant and pepper varieties and strains for bacterial wilt (*Pseudomonas*
443 *solanacearum*) resistance. *Phillippine Agriculturist* **46**:303-314.
- 444 Epstein E., 1999. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular*
445 *Biology* **50**:641-664.
- 446 Fawe A, Menzies J.G., Chérif M., Bélanger R.R., 2001. Silicon and disease resistance in
447 dicotyledons. In: Datnoff L.E., Snyder G.H., Korndörfer G.H. (Eds.). *Silicon in*

- 448 agriculture: studies in plants in plant science. v. 8, pp. 159-169. Elsevier Science,
449 Amsterdam.
- 450 Ferreira H.A., 2009. Si no controle da mancha-aquosa em meloeiro (*Cucumis melo* L.).
451 Mestrado. Dissertação. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.
- 452 Garcia A.L., 2011. Diversidade populacional de *Ralstonia solanacearum* em pimentão
453 no estado de Pernambuco e controle da murcha bacteriana. Ph. D. Tese.
454 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.
- 455 Ghareeb H., Bozsó Z., Ott P.G., Repenning C., Stahl F., Wydra K., 2011. Transcriptome
456 of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-
457 accumulator tomato implicates priming effect. *Physiological and Molecular Plant*
458 *Pathology* **75**:83-89.
- 459 Giannopolitis C.N., Ries S.K., 1977. Superoxide dismutase I: occurrence in higher
460 plants. *Plant Physiology*. **59**:309-314.
- 461 Harman G.E., Hayes C.K., Lorito M., Broadway R.M., Pietro A., Peterbauer C.,
462 Tronsmo A., 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of
463 chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* **83**:313-318.
- 464 Havir E.A., Mchale N.A., 1987. Biochemical and development characterization of
465 multiple forms of catalase in tabaco leaves. *Plant Physiology* **84**:450-455.
- 466 Kar M., Mishra D., 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during
467 rice leaf senescence. *Plant Physiology* **57**:315-319.
- 468 Kelman A., 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to
469 colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* **44**:693-695.
- 470 Korndörfer G.H., Lepsch I., 2001. Effect of silicon on plant growth and yield. In:
471 Datnoff L.E., Snyder G.H., Korndörfer G.H. (Eds.). Silicon in agriculture: studies in
472 plants in plant science. v. 8, pp. 133-147. Elsevier Science, Amsterdam.

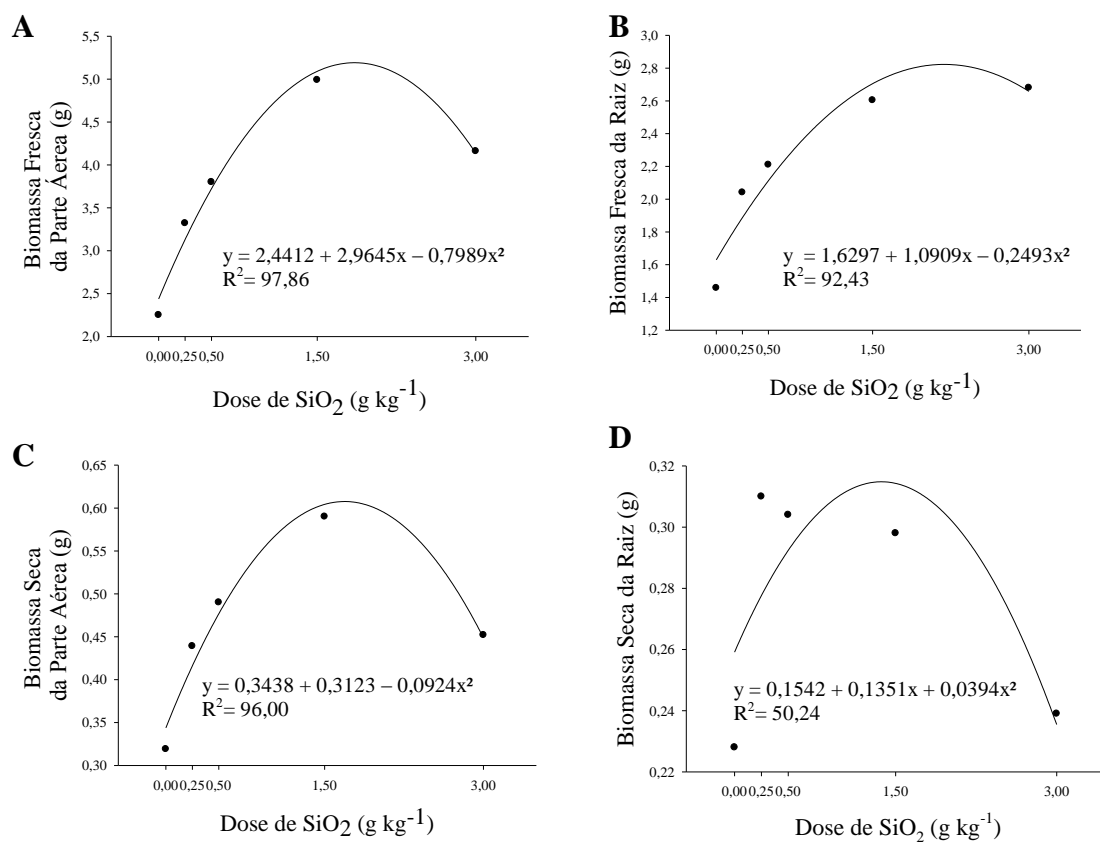
- 473 Korndörfer G.H., Pereira H.S., Camargo M.S., 2004. *Silicatos de cálcio e magnésio na*
474 *agricultura*. 3. ed. Uberlândia: UFU/ICIAG, (Boletim Técnico, 01).
- 475 Koshiha T., 1993. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea*
476 *mays*). *Plant and Cell Physiology* **34**:713-721.
- 477 Kvaratskhelia M., George S.J., Thorneley R.N.F., 1997. Salicylic acid is a reducing
478 substrate and not an effective inhibitor of ascorbate peroxidase. *The Journal of*
479 *Biological Chemistry* **272**:20998-21001.
- 480 Labanca E.R.G., 2002. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces*
481 *cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*)
482 contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*).
483 Ph.D. Tese. Departamento de Fitopatologia, Universidade de São Paulo, Piracicaba,
484 Brasil.
- 485 Lever M., 1972. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates.
486 *Analytical Biochemistry* **47**:273-279.
- 487 Ma J.F., Miyake Y., Takahashi E., 2001. Silicon as a beneficial element for crop plants.
488 In: Datnoff L.E., Snyder G.H., Korndörfer G.H. (eds.). Silicon in agriculture. pp. 17-
489 39. Elsevier Science, The Netherlands.
- 490 Matamoros M. A., Dalton D. A., Ramos J., Clemente M. R., Rubio M. C., Becana M.,
491 2003. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume
492 symbiosis. *Plant Physiology* **133**:499-509.
- 493 Miller G. L., 1956. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing
494 sugar. *Analytical Chemistry* **31**:426-428.
- 495 Mittler R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant*
496 *Science* **7**:405-410.
- 497 Nakano Y., Asada K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific
498 peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* **22**:867-880.

- 499 Nicholson R. L., Hammerschmidt R., 1992. Phenolic compounds and their role in
500 disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* **30**:369-389.
- 501 Nielsen L.W., Haynes F.L., 1960. Resistance in *Solanum tuberosum* to *Pseudomonas*
502 *solanacearum*. *American Potato Journal* **37**:260-267.
- 503 Noctor G., Foyer C.H., 1998. Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under
504 control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **49**:249-79.
- 505 Oliveira L.A., Castro N.M., 2002. Ocorrência de sílica nas folhas de *Curatella*
506 *americana* L. e *Davilla elliptica* St. Hil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*
507 **38**:159-170.
- 508 Oliveira J.C., Albuquerque G.M.R., Mariano R.L.R., Gondim D.M.F., Oliveira J.T.A.,
509 Souza E.B., 2012. Reduction of the severity of angular leaf spot of cotton mediated
510 by silicon. *Journal of Plant Pathology* **94**:297-304.
- 511 Resende M.L.V., Nojosa G.B.A., Aguiar M.A.G., Silva L.H.C.P., Niella G.R.,
512 Carvalho G.A., Giovanini G.R., Castro R.M., 2000. Perspectivas da indução de
513 resistência em cacaueteiro contra *Crinipellis perniciosus* através do benzotiadiazole
514 (BTH). *Fitopatologia Brasileira* **25**:149-156.
- 515 Resende M.L.V., Salgado S.M.L., Chaves Z.M., 2003. Espécies ativas de oxigênio na
516 resposta de defesa de plantas a patógenos. *Fitopatologia Brasileira* **28**:123-130.
- 517 Sarowar S., Kim E.N., Kim Y.J., Ok S.H., Kim K.D., Hwang B.K., Shin J.S., 2005.
518 Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants
519 enhances tolerance to oxidative stress and pathogens. *Plant Science* **169**:55-63.
- 520 Shaner G., Finney R.E., 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of
521 slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* **67**:1051-1056.

- 522 Silva I.T., Rodrigues F.A., Oliveira J.R., Pereira S.C., Andrade C.C.L.,Silveira R.P.,
523 Conceição M.M., 2010. Wheat resistance to bacterial leaf streak mediated by silicon.
524 *Journal of Phytopathology* **158**:253-262.
- 525 Silveira E.B., Gomes A.M.A., Ferraz E., Maranhão E.A.A., Mariano R.L.R., 1999.
526 Identificação de progênies de tomateiro resistentes à murcha bacteriana. *Horticultura*
527 *Brasileira* **17**:6-10.
- 528 Souza R.F., Pozza A.A.A, Carvalho J.G., Faquin V., 2005. Effect of the application of
529 silicate in substitution to the carbonate in soils with different textures and
530 mineralogies in the production of *Brachiaria brizantha*. In: III Silicon in agriculture
531 conference. Korndörfer G.H., Coelho L., Nolla A., Rodrigues F.A. (eds.) pp.140.
532 Universidade Federal de Uberlândia, Brasil.
- 533 Takatsu A., Lopes C.A., 1997. Murcha-bacteriana em hortaliças: avanços científicos e
534 perspectivas de controle. *Horticultura Brasileira* **15**:170-177.
- 535 Wen-Chi H., Ying-Chou C., Yaw-Huei L., 1998. Chitinase activity of sweet potato
536 (*Ipomoea batatas* L. Lam var. tainong). *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **39**:
537 93-97.

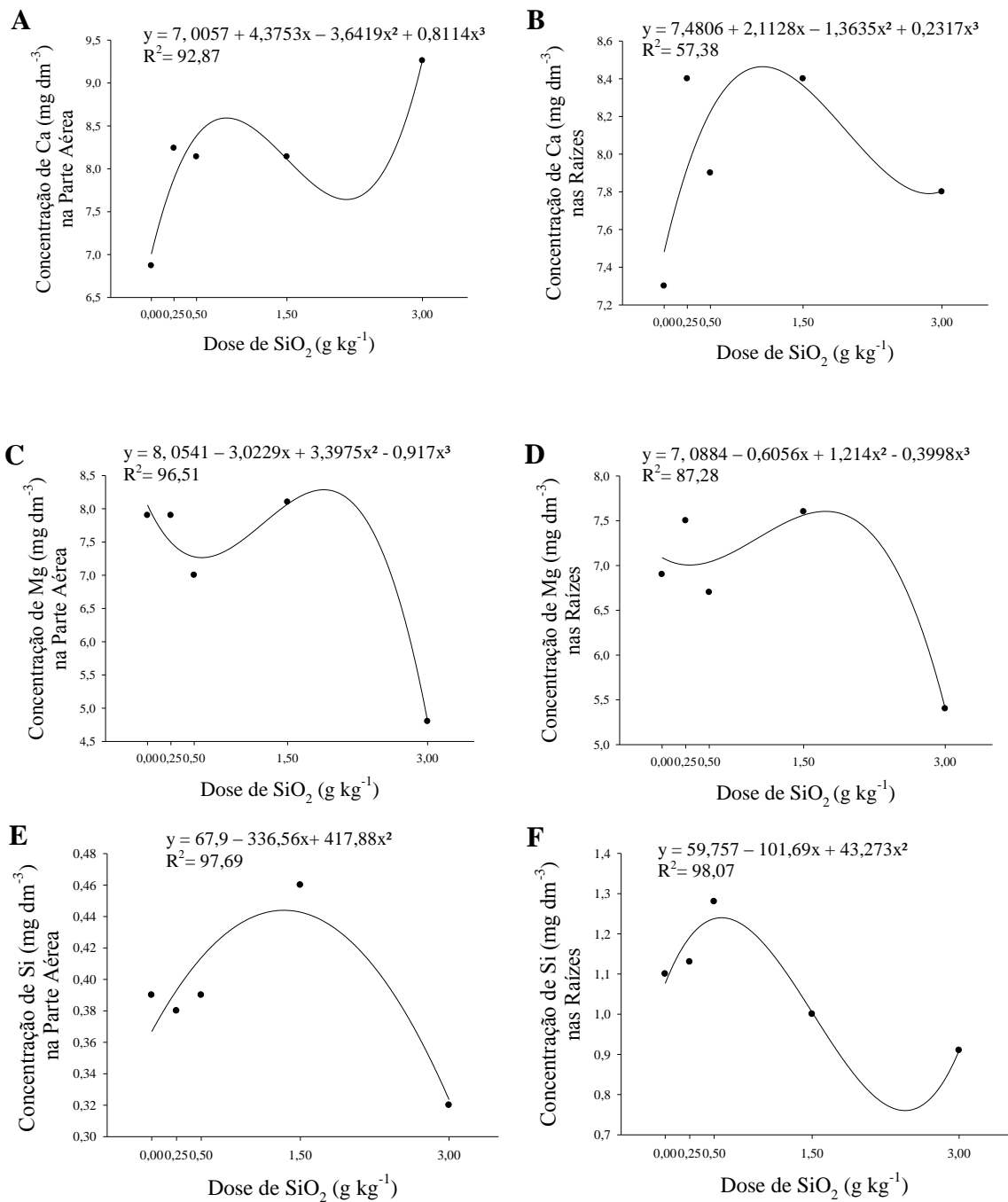


538 **Fig. 1.** Período de Latência (PL₅₀) (A), Índice de Murcha Bacteriana (IMB) (B) e Área
 539 Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) (C) em plantas de pimentão cv.
 540 Enterprise cultivadas em substrato ao qual silicato de cálcio foi incorporado em
 541 diferentes doses de SiO₂ (g kg⁻¹), e transplantadas para solo infestado com *Ralstonia*
 542 *solanacearum* CGM-8.

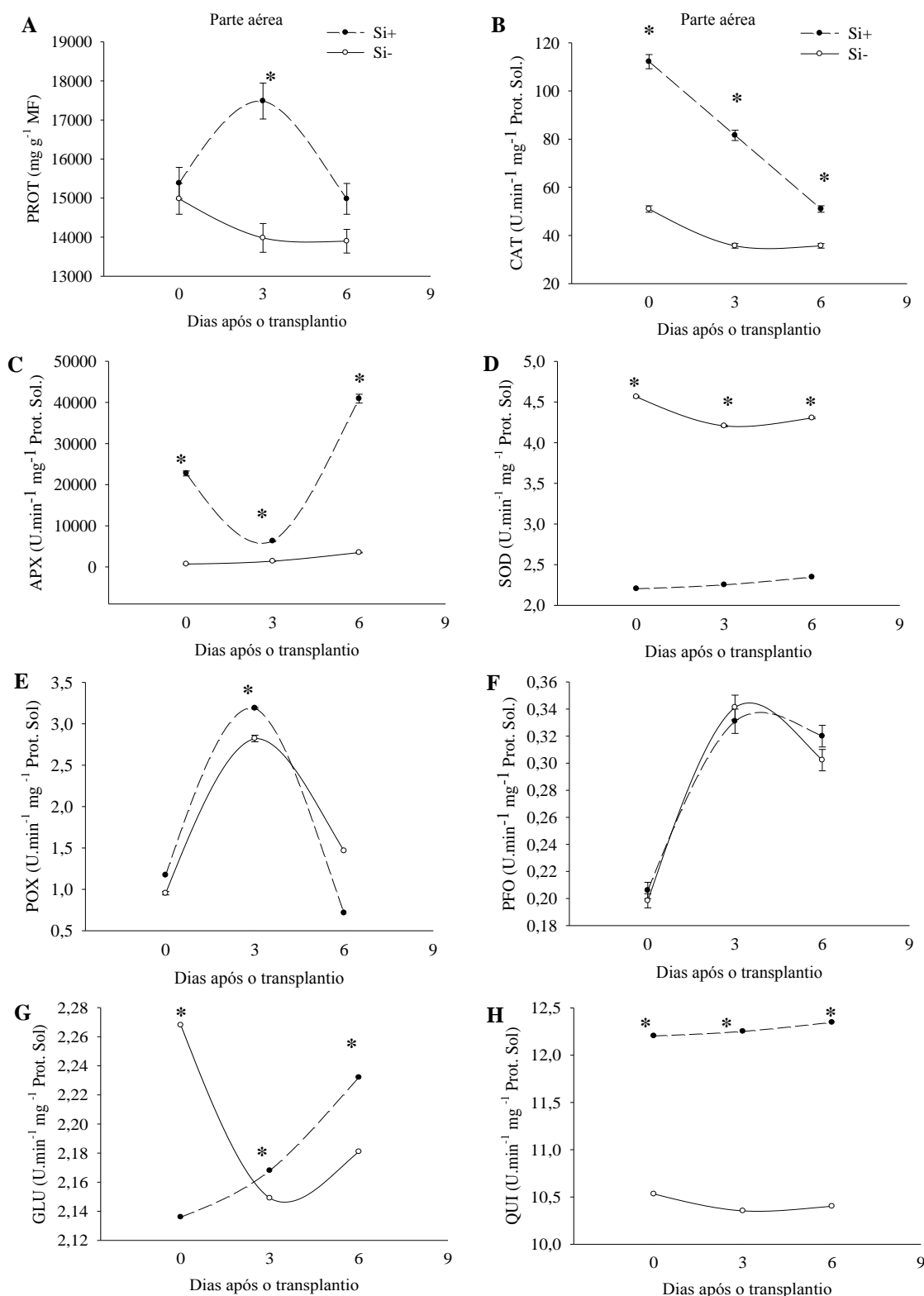


543 **Fig. 2.** Biomassa fresca e seca da parte aérea e raízes de plantas de pimentão com 36
 544 dias, cv. Enterprise, cultivadas em substrato ao qual silicato de cálcio foi incorporado
 545 em diferentes doses de SiO₂ (g kg⁻¹), e transplantadas para solo infestado com *Ralstonia*
 546 *solanacearum* CGM-8.

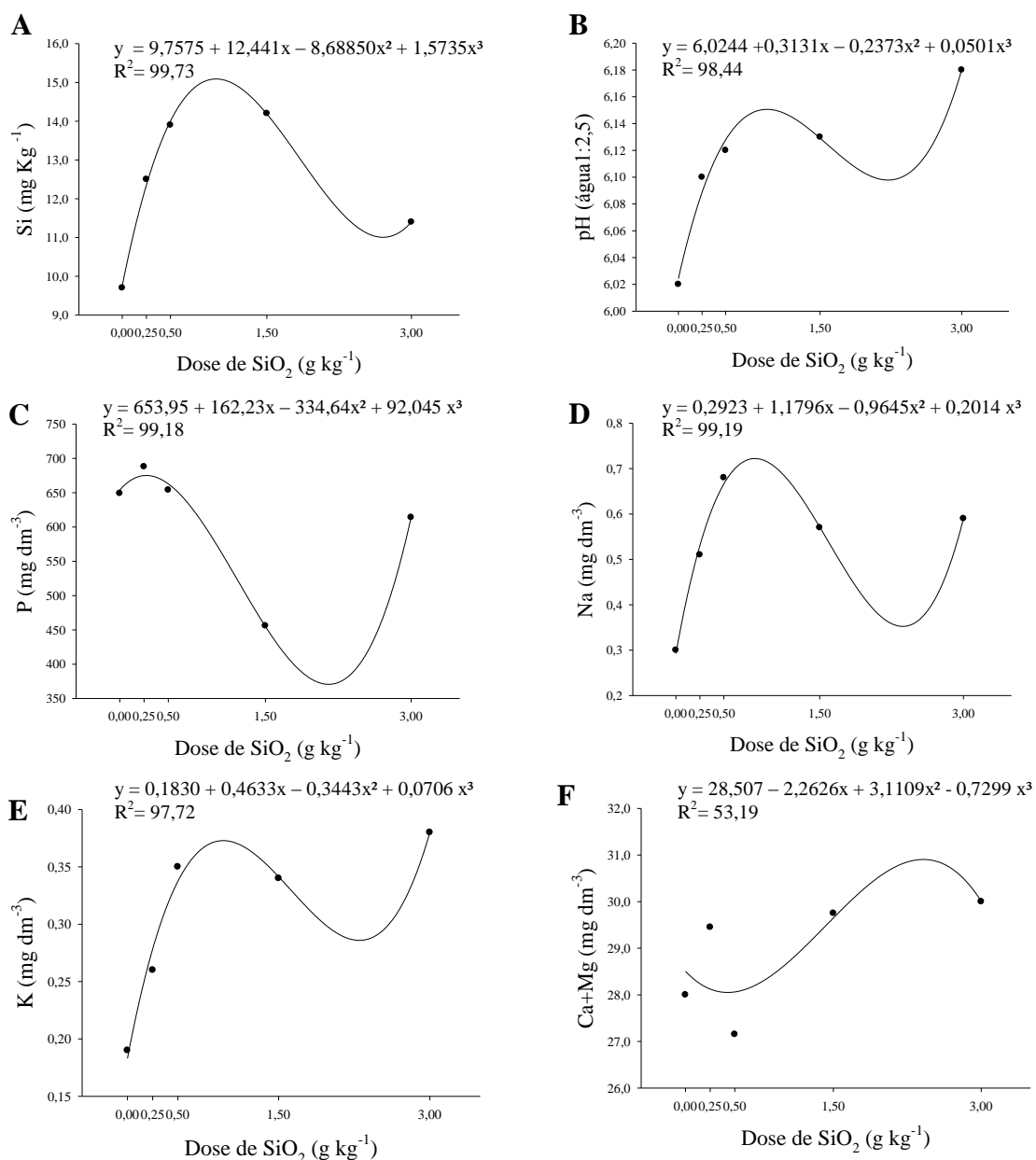
547



549 **Fig. 3.** Concentração de cálcio (Ca⁺²), magnésio (Mg⁺²) e silício (Si) na parte aérea e
 550 raízes de plantas de pimentão cv. Enterprise com 36 dias, cultivadas em substrato ao
 551 qual silicato de cálcio foi incorporado em diferentes doses de SiO₂ (g kg⁻¹), e
 552 transplantadas para solo infestado com *Ralstonia solanacearum* CGM-8.



553 **Fig. 4.** Teor de proteínas totais (PROT) (A) e atividades das enzimas Catalase (CAT)
 554 (B), Ascorbato peroxidase (APX) (C), Superóxido dismutase (SOD) (D), Peroxidase
 555 (POX) (E), Polifenoloxidase (PFO) (F), β-1,3-glucanase (GLU) (G), Quitinase (QUI)
 556 (H) em folhas de plantas de pimentão da cv. Enterprise, tratadas (Si+) ou não com
 557 silício (Si-) e transplantadas para solo infestado com *Ralstonia solanacearum* CGM8.
 558 Cada ponto representa a média de três repetições. As barras representam o desvio
 559 padrão das médias. Médias dos tratamentos (Si-) e (Si+) seguidas por um (*) diferem
 560 entre si pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.



561 **Fig. 5.** Concentração de silício (Si) (A), pH (B), fósforo (P) (C), sódio (Na⁺) (D),
 562 potássio (K⁺) (E), cálcio e magnésio (Ca⁺²+Mg⁺²) (F) no substrato de cultivo das plantas
 563 de pimentão cv. Enterprise, em função de doses crescentes de SiO₂ aplicadas, aos 21
 564 dias após tratamento.

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- A biofumigação do solo com os óleos essenciais de palmarosa, bergamota e laranja doce reduziu a severidade da murcha bacteriana do pimentão em casa de vegetação, no entanto apenas o óleo de palmarosa foi eficiente em campo;
- A aplicação dos óleos essenciais por biofumigação em condições de campo não afetou o crescimento e a produtividade média das plantas de pimentão nem a população de *Ralstonia solanacearum* no solo, mas o número de frutos por planta foi elevado pelo óleo de palmarosa;
- O crescimento *in vitro* de *R. solanacearum* foi inibido pelo óleo de palmarosa;
- O silicato de cálcio proporcionou redução da severidade da doença, aumento na biomassa das plantas, aumento da atividade enzimática e acúmulo de silício (Si) nas plantas;
- A suplementação com o silicato de cálcio elevou o Ca^{+2} na parte aérea das plantas de pimentão, o que esteve correlacionado com a redução da severidade da murcha bacteriana;
- O silicato de cálcio não influenciou o crescimento de *R. solanacearum in vitro*;
- Os prováveis mecanismos de ação do Si foram: ação direta pela deposição nos tecidos impedindo a colonização do patógeno e ação indireta pelo aumento de biomassa da planta, aumento da absorção de Ca^{+2} ; e sinalização para produção de enzimas de defesa contra o patógeno;
- A produção de mudas em substrato contendo silicato de cálcio é uma prática cultural que deve ser recomendada na cadeia produtiva do pimentão;
- O óleo essencial de palmarosa e o silicato de cálcio têm potencial como estratégia alternativa para o manejo da murcha bacteriana do pimentão.