

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA
MESTRADO EM AGROECOLOGIA

GEUSA FONSECA DOURADO

**MANEJO ECOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS EM SEMENTES DE
PIMENTÃO**

São Luís - MA

2019

GEUSA FONSECA DOURADO

Engenheira Agrônoma

MANEJO ECOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS EM SEMENTES DE PIMENTÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Agroecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues

São Luís - MA

2019

Dourado, Geusa Fonseca.

Manejo ecológico de fitopatógenos em sementes de pimentão / Geusa Fonseca Dourado. – São Luís, 2019.

80 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, 2019.

Orientador: Profa. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues.

1.Capsicum annum L. 2.Sanidade de sementes. 3.Métodos alternativos

Elaborado por Giselle Frazão Tavares- CRB 13/665

GEUSA FONSECA DOURADO

MANEJO ECOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS EM SEMENTES DE PIMENTÃO

Aprovado em ____ de _____ de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

(1º examinador)
Profa. Dra. Maria Rosangela Malheiros Silva

(2º examinador)
Prof. Dr. José Ribamar Muniz Campos Neto

Dedico

A Deus,

por me fortalecer a cada dia.

A meus pais, Manoel Marcelino Dourado

que dedicou sua vida à educação dos filhos e

Domingas Brasilina Fonseca Dourado que com toda sabedoria,

respeito, amor, carinho sempre deu apoio a cada um dos meus sonhos.

A Sandra Sá (in memoriam), pela amizade fiel e por todo incentivo dado ao

mestrado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, meu esposo **Adriano Diniz** pelo carinho, compreensão e parceria nos momentos que precisei e a minha filha, anjo da minha vida, **Helena Dourado Diniz**, que mesmo não compreendendo ainda todo esse universo, é minha maior fonte de inspiração.

Às minhas irmãs, mais que amadas, **Giselia Dourado, Jesana Dourado e Dulce Dourado**, que sempre foram e são meus exemplos de fé, luta, coragem e muita resistência para enfrentar tudo quanto for preciso, de forma justa e humana, para que os objetivos sejam alcançados. À minha linda sobrinha **Bruna D. Ramos** que pela benção de Deus veio me apoiar no momento em que mais precisei.

O meu amado irmão que sempre foi meu refúgio amigo, com seu senso de humor constante, mesmo sem perceber, me ensinou a encarar a vida com um sorriso no rosto.

À professora Ariadne Enes Rocha pelo apoio, atenção e amizade, sua simplicidade e amor ao próximo é uma prova de que menos é, inegavelmente, bem mais.

Ao professor Itaan de Jesus Pastor Santos que me reinseriu na vida acadêmica em um momento que nem eu mesma imaginava, me possibilitou vivenciar e amar a extensão acadêmica.

Aos amigos do LABEX/UEMA, este que nasceu laboratório e hoje é Núcleo de Extensão e Desenvolvimento, sou parte de sua história.

Aos amigos da Proexae, em especial da Coordenação de Extensão, externo meus sinceros agradecimentos.

A meus amigos do NUGEO/UEMA, sem citar nomes, pois as amizades que nasceram durante meus seis anos vivência por lá já são suficientes.

Agradeço aos amigos do laboratório de fitopatologia, todos que contribuíram direta e indiretamente, pra que esses resultados fossem alcançados, em especial à Monica Shirley Brasil que, mesmo com suas limitações nunca hesitou em me ajudar.

À minha orientadora, professora Antônia Alice Costa Rodrigues que me acolheu em sua equipe com toda sua sutileza e profissionalismo és um anjo na vida de todos que têm a oportunidade de conviver com sua presença e aprendi muito durante essa trajetória.

Imensamente ao meu Senhor e meu Deus pelo dom da vida.

A todos, GRATIDÃO.

“A coragem não torna necessariamente as coisas mais fáceis, mas as torna possíveis”

Dulce Ramos

“Deus me conceda falar com propriedade e pensar de forma correspondente aos dons que me foram dados, porque ele é o guia da sabedoria e o orientador dos sábios. Em seu poder estamos nós, as nossas palavras, a nossa inteligência e as nossas habilidades.”

Sl 7:15-16

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	VIII
LISTA DE TABELAS.....	XIX
RESUMO	X
ABSTRACT.....	XII
CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. O HOSPEDEIRO: PIMENTÃO.....	16
2.1 A CULTURA DO PIMENTÃO.....	16
2.2 PRINCIPAIS PATÓGENOS ASSOCIADOS ÀS SEMENTES DE PIMENTÃO.....	19
3. QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES	21
4. TRATAMENTO DE SEMENTES	23
4.1 QUIMIOTERAPIA	24
4.2 EXTRATOS VEGETAIS	25
4.3 TERMOTERAPIA.....	27
4.4 CONTROLE BIOLÓGICO	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
CAPÍTULO II - MÉTODOS DE CONTROLE ALTERNATIVOS NA REDUÇÃO DE FITOPATÓGENOS ASSOCIADOS A SEMENTES DE PIMENTÃO, EM TESTES <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i>	40
INTRODUÇÃO	43
MATERIAIS E MÉTODOS	44
RESULTADOS	49
DISCUSSÃO	56
CONCLUSÕES.....	64
AGRADECIMENTOS	65
REFERÊNCIAS	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
ANEXOS	75

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Severidade da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, na cultivar de pimentão All Big, em função dos tratamentos de sementes nos tempos de avaliações, São Luís (MA), 2018. Onde: CV (%) = 3,33; T1 = Termoterapia (45 °C 25 min.); T2 = Extrato de manjeriço a 5%; T3 = *Bacillus methylotrophicus*, B47; T4 = Quality® (*Trichoderma asperellum*); T5 = Tiofanato Metílico; T6 = Testemunha. Valores transformados pela \sqrt{x} .
Valores transformados pela \sqrt{x} 54

Figura 2. Efeito dos tratamentos sobre a antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* na cultivar de pimentão All Big, aos 23 DAI., São Luís (MA), 2018. Onde: CV (%): 3,77; T1 = Termoterapia (45 °C 25 min.); T2 = Extrato de Manjeriço (5%); T3 = *Bacillus methylotrophicus*, B47; T4 = Quality; T5 = Tiofanato Metílico; T6 = Testemunha. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Valores transformados pela \sqrt{x} 55

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de pimentão, através do teste de germinação, umidade e vigor. São Luís (MA), 2017. 49
- Tabela 2.** Controle de fitopatógenos em sementes de pimentão All Big através de tratamento in vitro com extratos vegetais. São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha. NC = Não Controlou. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey($p<0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} 50
- Tabela 3.** Controle de fitopatógenos em sementes de pimentão All Big, através da termoterapia. São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} 51
- Tabela 4.** Controle de fitopatógenos em sementes de pimentão All Big, através do tratamento com produtos químicos e biológicos, São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} 52
- Tabela 5.** Controle de fitopatógenos associados às sementes de pimentão All Big, microbiolizadas com isolados de Bacillus sp. São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha; B7' = Bacillus sp.; B22 = B. polymyxa; B22' = B. pentothenticus; B41 = B. cereus e B47 = B. methylotrophicus. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} 53

MANEJO ECOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS EM SEMENTES DE PIMENTÃO

Autora: Geusa Fonseca Dourado

Orientadora: Profa. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues

RESUMO - A presença de fungos fitopatogênicos em sementes é prejudicial em todas as fases de produção da cultura do pimentão, por comprometer tanto a qualidade sanitária, quanto a fisiológica. A pesquisa objetivou avaliar a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de pimentão, a redução de fitopatógenos e o controle da antracnose com o uso de termoterapia, extratos vegetais e de produtos químicos e biológicos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para todos os experimentos e na análise estatística as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Nos ensaios *in vitro*, a qualidade fisiológica e sanitária, foi realizada conforme as Regras para Análise de Sementes. Nos ensaios com produtos químicos (Thiofanato Metílico, Tebuconazole, Carbendazin e Azoxistrobina+Thiram) e biológicos (Quality® - *Trichoderma asperellum* e Rizos® - *Bacillus subtilis*), as sementes foram tratadas de acordo com as recomendações do fabricante em sete tratamentos e cinco repetições. Na termoterapia, as sementes ficaram imersas em banho-maria com seis combinações diferentes de tempo e temperatura em sete tratamentos e cinco repetições. Nos extratos aquosos vegetais: nim (*Azadirachta indica* A. Juss), eucalipto (*Eucalyptus citriodora* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), as sementes foram imersas por dez minutos em cinco tratamentos e cinco repetições. No controle biológico, as sementes foram imersas em solução dos isolados de *Bacillus*, B41 (*Bacillus cereus*), B47 (*B. methylotrophicus*), B22 (*B. polymyxa*), B7' (*Bacillus* sp.) e B22' (*B. pentothenticus*) em seis tratamentos e cinco repetições. Logo após os tratamentos, as sementes foram plaqueadas, incubadas e avaliadas após sete dias. O experimento “*in vivo*”, foi conduzido em casa de vegetação com os tratamentos com maior redução nos fitopatógenos das sementes: termoterapia (45°/25 min.), extrato aquoso de manjeriço, 5%; *Bacillus methylotrophicus*; Quality®; Tiofanato Metílico. Após 30 dias do plantio das sementes tratadas, as plântulas de pimentão foram inoculadas com o patógeno *C. gloeosporioides*. Para avaliação da severidade da antracnose adotou-se escala de notas específica para o patossistema. Observou-se a germinação das sementes se manteve dentro dos padrões comerciais. Na redução dos fitopatógenos nas sementes, sem interferir na germinação, o extrato aquoso de manjeriço apresentou menor incidência de fungos, com 0,19 patógenos/tratamento. Na termoterapia foi o tratamento com 45°C/ 25'. No uso dos produtos químico, o Tiofanato Metílico e, no biológico, o Quality®

(*Trichoderma asperellum*). No controle biológico, o isolado B47 (*B. methylotrophicus*). No manejo da antracnose os resultados foram significativos no controle da doença, em que, o extrato aquoso de manjerição a 5 %, o isolado B47 e o produto Quality® promoveram melhor resposta na redução da severidade da antracnose no pimentão.

Palavras-chave: *Capsicum annuum* L., Sanidade de Sementes e Métodos Alternativos de Controle.

ECOLOGICAL MANAGEMENT OF PHYTOPATHOGENS IN CHICKEN SEEDS

Author: Geusa Fonseca Dourado

Advisor: Profa. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues

ABSTRACT - The association of phytopathogenic fungi in seeds is harmful in all phases of crop production, as it compromises both sanitary and physiological quality. Chili (*Capsicum annuum* L.) is susceptible to various diseases caused by fungi such as anthracnose, a highly destructive disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). The objective of this research was to evaluate the sanitary and physiological quality of pepper seeds, the reduction of phytopathogens and the control of anthracnose with the use of thermotherapy, plant extracts and chemical and biological products. The experimental design was completely randomized for all experiments and in the statistical analysis the means were compared by the Tukey test ($p < 0.05$). In the *in vitro* tests, the physiological and sanitary quality was performed according to the Rules for Seed Analysis. In the trials with chemical products (Thiophanate Methyl, Tebuconazole, Carbendazin and Azoxystrobin + Thiram) and biological (Quality® - *Trichoderma asperellum* and Rizos® - *Bacillus subtilis*), the seeds were treated according to the manufacturer's recommendations in seven treatments and five replicates. In the thermotherapy, the seeds were immersed in a water bath with six different combinations of time and temperature in seven treatments and five replications. In the aqueous extracts of plants: neem (*Azadirachta indica* A. Juss), eucalyptus (*Eucalyptus citriodora* L.), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) and basil (*Ocimum basilicum* L.), the seeds were immersed for ten minutes in five treatments and five replications. (*Bacillus cereus*), B47 (*B. methylotrophicus*), B22 (*B. polymyxa*), B7' (*Bacillus* sp.) And B22' (*B. pentothenticus*) isolates in six treatments and five replicates. Soon after the treatments, the seeds were plated, incubated and evaluated after seven days. The *in vivo* experiment was conducted in a greenhouse with treatments with the highest reduction in seed phytopathogens: thermotherapy (45 ° / 25 min.), Aqueous extract of basil, 5%; *Bacillus methylotrophicus*; Quality®; Methyl thiophanate. After 30 days of planting the treated seeds, the pepper seedlings were inoculated with the pathogen *C. gloeosporioides*. To evaluate the severity of the anthracnose, a specific notes scale was adopted for the pathosystem. Seed germination was observed to be within commercial standards. In the reduction of phytopathogens in the seeds, without interfering in the germination, the aqueous basil extract had a lower incidence of fungi, with 0.19 pathogens / treatment. In the thermotherapy was the treatment with 45 ° C / 25 '. In the use of the chemicals, the Methyl Thiophanate and, in

the biological, the Quality® (*Trichoderma asperellum*). In biological control, isolate B47 (*B. methylotrophicus*). In the management of the anthracnose, the results were significant in the control of the disease, in which the aqueous extract of 5% basil, the B47 isolate and the Quality product promoted a better response in reducing the severity of the anthracnose in the sweet pepper.

Key words: *Capsicum annuum* L., Seed Health and Alternative Control Methods.

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

As hortaliças são ricas em vitaminas e minerais e estão presentes na alimentação diária da população. No Brasil, os avanços no cultivo de hortaliças, na última década, permitiram um aumento na produção de 33%, redução de 5% na área plantada, além de um incremento de 38% na produtividade (SILVA et al., 2015). A produção de hortaliças, neste país, insere-se como uma das atividades agrícolas de grande importância, sendo os estados do sudeste brasileiro os que concentram o maior contingente populacional, os maiores produtores e consumidores de olerícolas do País. Em 2015, o estado de São Paulo apresentou a maior produção com cerca de 17,9 milhões de toneladas, 20% da produção nacional, seguido de Minas Gerais (13,9%) e Rio de Janeiro (13,2%) (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS, 2017).

Apesar da importância das hortaliças no Brasil, essas são suscetíveis a vários fitopatógenos, principalmente, aqueles transmitidos por sementes. A sanidade das sementes é o fator de maior relevância no processo de produção de mudas saudáveis, já que as sementes estão sujeitas ao ataque de fitopatógenos que provocam sua deterioração, além de causar ferimentos e anomalias nas plântulas (PIVETA et al., 2010).

Diversas doenças de importância econômica podem ser transmitidas por sementes, como doenças fúngicas, bacterianas e viroses que são difíceis de controlar. Dentre as doenças é possível destacar algumas conhecidas como a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e a mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) no pimentão, a mancha de alternaria (*Alternaria solani*) no tomate, a podridão negra (*Xanthomonas campestris*) na couve e no repolho, o mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), além de outras doenças relevantes (FRANÇA et al., 2015; PEREIRA et al., 2015; ALMEIDA et al., 2017).

Devido a isso, o controle das doenças, cujos agentes são veiculados por sementes é de extrema importância, pela necessidade de reduzir e evitar sua transmissão a longas distâncias, para tanto, é possível obter tais resultados através do tratamento sanitário de sementes, com capacidade de redução dos agentes causais (BRAGA et al., 2010).

O tratamento de sementes com o emprego de produtos químicos ainda é o método mais utilizado na agricultura. Porém, verifica-se que o uso desses produtos pode provocar diversos problemas, principalmente seus possíveis efeitos negativos sobre os seres humanos e o meio ambiente, além da capacidade dos microrganismos em desenvolver resistência a determinados compostos e a contaminação de hortaliças (BRAGA et al., 2010).

No último relatório da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 2013 a 2015, cerca de 88,06% das amostras de frutos de pimentão analisadas, apresentaram elevado percentual de agrotóxicos não autorizados, aproximadamente 71%, o que mantém o pimentão, desde 2011, em primeiro lugar no ranking de alimentos com maior nível de contaminação por agrotóxicos (ANVISA, 2016). Resultado que demonstra o risco direto que o agricultor se submete e que compromete a qualidade do meio ambiente (recursos hídricos, fauna e flora) ao manipular esses produtos químicos sem seguir, com o devido cuidado, as recomendações de uso autorizadas pelos órgãos competentes, além de produzir e comercializar frutos contaminados, prejudiciais à saúde humana.

Uma forma de minimizar o uso excessivo de produtos químicos em campos de produção é por meio da adoção de métodos de tratamento sanitário de sementes, que possam reduzir e erradicar os fitopatógenos, a elas associados, e produzir mudas saudáveis e vigorosas. Assim, conhecer a qualidade sanitária das sementes torna-se pressuposto para identificar os fitopatógenos presentes, bem como, para definir o melhor método de tratamento a ser empregado, nas sementes, que garanta um maior controle fitossanitário.

Portanto, na busca pelo desenvolvimento sustentável sem agredir o meio ambiente, pelo efeito residual dos agrotóxicos e na garantia da qualidade alimentar, o manejo sanitário de sementes de hortaliças, como tratamento com extratos vegetais, uso de termoterapia e o controle biológico, caracterizam-se como métodos alternativos potenciais no manejo ecológico dos principais patógenos em sementes de hortaliças.

Nesse sentido, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de pimentão, a redução de fitopatógenos nas sementes e o controle da antracnose com o uso de termoterapia, extratos vegetais de nim (*Azadirachta indica* A. Juss), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e de produtos químicos e biológicos.

2 O HOSPEDEIRO: PIMENTÃO

2.1 A Cultura do Pimentão

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) tem como centro de origem as Américas do Sul Central e a região dos Andes, foi introduzido no Brasil em meados do século XVI, pelos portugueses e espanhóis, além de ser considerado um dos primeiros condimentos utilizados para dar cor, aroma e sabor aos alimentos (HEIDEN et al., 2007; ROSELINO et al., 2010).

Esta hortaliça pertencente à família das Solanáceas, perene, muito embora cultivada anualmente (ARLINDO et al., 2007).

Em 2017, na produção mundial de pimentas (*Capsicum* spp.) e pimentões verdes, a China produziu cerca de 35,6 milhões de toneladas, (66,1 % da produção total), seguida pelo México (4,8 %) e Turquia (4,3 %), enquanto que no seguimento de pimentas e pimentões secos, Índia com 2,1 milhões de toneladas (42,4 %) Tailândia (7,1 %) e China (6,3 %), apresentaram as maiores produções. O Brasil, teve destaque apenas no *ranking* mundial de produção de pimentas, ao ocupar a 3ª posição, com aproximadamente 79.371 toneladas e ficou atrás somente do Vietnã e Indonésia (FAO, 2019).

A área cultivada anualmente, no Brasil, com o pimentão é em torno de 13 mil hectares e produção de frutos, aproximadamente 350 mil toneladas (CENÁRIO HORTIFRUTI BRASIL, 2018). No estado de São Paulo, maior produtor de hortaliças do País, ocupa a 7ª posição no *ranking* das mais produzidas no Estado, além de ser rico em vitamina C, quando maduro, também é fonte de antioxidantes naturais como a vitamina E e carotenóides (REIFSCHNEIDER, 2000).

Essa hortaliça tem adquirido grande importância socioeconômica no Brasil, comercializada de diversas formas, com o cultivo realizado tradicionalmente em campo aberto, além de ser uma das hortaliças mais consumidas e cultivadas no país (MODENA et al., 2013; MONTEIRO NETO et al., 2016).

O gênero *Capsicum*, do qual o pimentão faz parte, conta com aproximadamente 30 espécies identificadas. No processo de classificação de suas espécies são adotados os níveis de domesticação em que as espécies são agrupadas como: domesticadas, semidomesticadas e silvestres. No entanto, somente cinco são tratadas como domesticadas: *C. annum* e suas formas botânicas, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* e *C. pubescens* (BÜTTOW et al., 2010; CARRIZO et al., 2013). A Embrapa Clima Temperado, Pelotas (RS), conserva o material genético de espécies do gênero *Capsicum* sp., pimentas e pimentões (*C. annum*), no Banco Ativo de Germoplasma (TRECHA et al., 2017), tais materiais genéticos são utilizados no desenvolvimento de novas pesquisas sobre as espécies.

As plantas do gênero *Capsicum* possuem uma grande variação morfológica, como altura, cor, forma de crescimento, posicionamento das flores, folhas e frutos que lhe conferem uma diversidade de espécies, também sujeitas a variações conforme os fatores bióticos e abióticos que compõem a região do cultivo. Apresentam sistema radicular pivotante, folhas com formato variando de ovalado e lanceolado a deltóide, com coloração verde, mas são, também, observadas folhas variegadas e violetas (CARVALHO;

BIANCHETTI, 2007). O pimentão e várias pimentas apresentam flores solitárias e corola branca, as flores são hermafroditas, com o cálice composto por cinco sépalas (podendo variar entre seis e oito) e a corola por cinco pétalas (podendo variar entre seis e oito) (PICKERSGILL, 1971; PICKERSGILL, 1997).

As plantas de pimentão são autógamas, ou seja, os gametas masculinos e femininos, quando fecundados, são originados na mesma flor, facilitando a reprodução. Entretanto, é possível que ocorra fecundação cruzada, com uma taxa que pode variar entre 0,5 a 70 %, resultante de modificações na morfologia da flor, da atuação de insetos polinizadores, das práticas de cultivo, entre outros fatores (CARVALHO; BIANCHETTI, 2007; COSTA et al., 2008).

O pimentão apresenta frutos em baga, sua estrutura interna é oca e com forma que se assemelha a uma cápsula. O formato apresenta variações entre as espécies e também dentro da espécie sendo produzidos desde os alongados e arredondados aos triangulares ou cônicos, além dos campanulados, quadrados ou retangulares (CARVALHO; BIANCHETTI, 2007). Em relação à coloração é possível encontrar frutos de pimentões produzidos em cores variadas como o vermelho, o amarelo, do laranja ao roxo e marrom que se distinguem pelos pigmentos carotenoides (LAGUNA et al., 2011).

A pimenta e o pimentão, além da forma e tamanho, têm como principal diferença o caráter de pungência, a ardência, presente nas pimentas, em que a capsaicina é a substância responsável por essa característica, uma mutação provocada nesse caráter originou plantas não-pungentes. Assim, a utilização das pimentas tem sido mais direcionada à produção de condimentos, dado aos princípios ativos que lhe conferem aroma e sabor (BÜTTOW et al., 2010). A pungência, embora seja um caráter dominante, é susceptível às condições ambientais. Os avanços na ciência permitiram a descoberta da pimenta sem pungência, do tipo doce, o que favoreceu o processo de seleção realizado pelo melhoramento com o objetivo de obter frutos de maiores tamanhos com a permanência da não-pungência, que deu origem ao fruto denominado pimentão (PICKERSGILL, 1971; PICKERSGILL, 1997).

As plantas de pimentão e pimenta apresentam sensibilidade a temperaturas baixas e não toleram geadas, têm o desempenho favorecido em pleno calor, por isso é recomendado o cultivo no período em que as temperaturas são mais elevadas, garantindo assim uma germinação uniforme e plantas com bom desempenho produtivo, o que reduz os custos na produção (CARVALHO, 2007). O pimentão apresenta sementes com diâmetro variando de 3 a 5 mm, formato reniforme, cor amarelo-acinzentada e o embrião que assume a forma de espiral fica protegido na região interna da semente (PEREIRA, 2009).

2.2 Principais patógenos associados às sementes de pimentão

As sementes são um dos principais meios de sobrevivência e dispersão de patógenos (PEREIRA et al., 2015). Esses patógenos também podem atingir várias partes da planta, em múltiplos estágios de desenvolvimento da cultura, causando pequenos ou severos danos (VIANA et al., 2007).

Nas sementes os patógenos podem favorecer a transmissão de duas formas distintas: por infecção, com o transporte dos patógenos realizado na estrutura interna da semente; e por infestação, quando o patógeno, de maneira passiva, se adere apenas à estrutura externa da semente sem, necessariamente, lesionar o tecido de reprodução (Sá et al., 2011). Cabe ressaltar, que o transporte do patógeno, dessas duas formas, não implica necessariamente na sua transmissão. Entretanto, a transmissão do patógeno é favorecida o quão mais interno à semente ele se alojar (PEREIRA et al., 2015).

O pimentão pode ser afetado por diversas doenças e muitas dessas doenças são transmitidas por meio das sementes de pimentão (Almeida et al. 1996). Na literatura consta a descrição de vários patógenos que podem ser transmitidos via sementes de pimentão dentre fungos, bactérias e vírus, com destaque para: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) (MACHADO, 2000; VIANA et al., 2007; PEREIRA et al., 2015; FRANÇA et al., 2015); *Fusarium* spp. (COSTA et al., 2014; VIEIRA et al., 2018); *Alternaria* spp. (PEREIRA et al., 2015); *Curvularia* spp. (COSTA et al., 2014); *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (MACHADO, 2000; PEREIRA et al., 2015; SALLES, et al., 1991); *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (VIANA et al., 2007); *Pepper mild mottle virus* (PPMoV) (MACHADO, 2000; PEREIRA et al., 2015); *Cucumber mosaic virus* (CMV) (ALI; ROOSSINCK, 2010); *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (PEREIRA et al., 2015).

Outros agentes patogênicos também são referenciados em associações às sementes de pimentão, os chamados fungos de armazenamento, como os pertencentes aos gêneros *Aspergillus* spp. (KIKUTI et al. 2005; COSTA et al., 2014; VIEIRA et al., 2018) e *Penicillium* sp. (REVERBERI et al., 2010 e VIEIRA et al., 2018) além do *Rhizopus* spp., descritos como responsáveis por comprometer a qualidade fisiológica de sementes e grãos, bem como, pela capacidade de produzir micotoxinas tóxicas aos seres vivos (POPINIGIS, 1977; GOLDFARB et al., 2010; REVERBERI et al., 2010).

Dentre as principais doenças fúngicas que acometem o pimentão destaca-se a antracnose cujo agente causal é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz), (VIANA, 2007), dada a sua importância econômica ao potencial de danos causado à cultura.

Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*)

A antracnose, cujo agente causal é o fungo pertencente ao gênero *Colletotrichum*, é uma das doenças de maior relevância para a família das Solanáceas, como as pimentas e pimentões, altamente destrutiva em regiões tropicais e subtropicais, especialmente em cultivos conduzidos em campo aberto durante períodos quentes e úmidos (LOBO JÚNIOR et al., 2001; FRANÇA et al., 2015).

A transmissão do fungo pode ocorrer por meio da água, chuva, vento e também por sementes contaminadas, além de manter-se presente em outras plantas susceptíveis das Solanáceas como tomate, jiló e berinjela, antes de infectar o pimentão. Outra forma de sobrevivência do patógeno é a permanência em restos culturais (AZEVEDO et al., 2006; VIANA et al., 2007).

As lesões nas hastes apresentam coloração escura em formato de estrias, nas folhas apresenta coloração é parda, com manchas necróticas, secas e irregulares. Nos frutos, onde ação do fungo é mais severa, as lesões são deprimidas, com formas tipicamente circulares e tamanhos variados, de coloração rósea, salmão ou alaranjada, característica das frutificações na forma de acérvulos escuros com uma massa mucilaginosa, solúvel em água, de esporos (conídios), o que justifica a alta capacidade de infestação da doença nos período chuvoso e em condições de alta umidade (VIANA et al., 2007; FANTINEL et al. 2018).

O fungo encontra condições favoráveis em clima quente e úmido, principalmente no período chuvoso, com temperaturas variando de 20 a 24 °C, onde requer maior atenção com uso de medidas de controle eficientes, caso contrário o patógeno pode provocar até 100 % de dano na cultura (KUROZAWA; PAVAN, 2005; AZEVEDO et al., 2006; PAVAN et al., 2016).

A adoção do manejo integrado pode reduzir os danos provocados pela antracnose. Logo, a prevenção ainda é uma das melhores alternativas para evitar a manifestação da doença, principalmente, a começar pelo o uso de sementes saudáveis, além de adotar práticas culturais de grande relevância durante todo o ciclo da cultura, como: eliminar restos de culturas; evitar cultivo consecutivo de solanáceas (pimentas, tomate, berinjela, jiló) na mesma área, pois são fontes de inóculo; adoção de rotação de cultura; manter o controle de

plantas daninhas, pois também podem ser hospedeiras do patógeno; optar por sistema de irrigação por gotejamento, pois aspersão favorece a dispersão do fungo, dentre outras (AZEVEDO et al., 2006).

3 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES

A qualidade sanitária das sementes é tema de maior relevância na produção de mudas sadias, pois os agentes fitopatogênicos podem provocar lesões nas plântulas e redução do vigor, além de desencadear o processo de deterioração de sementes (PEREIRA et al., 2016).

A associação de fungos fitopatogênicos às sementes pode comprometer a qualidade sanitária em todos os processos de produção, além disso, esses fungos também podem reduzir a qualidade fisiológica das sementes, favorecer a transmissão patógeno-planta e favorecer a dispersão a longas distâncias (SANTOS et al., 2016).

As sementes constituem-se em importantes e eficientes veículos de disseminação de patógenos, os quais podem causar doenças nas mais diferentes culturas (FANAN et al., 2009).

A disseminação de patógenos é provocada, principalmente, por meio das sementes que favorecem a contaminação de novas áreas de produção (AGUIAR et al., 2001; FLÁVIO et al., 2014). Seus efeitos consistem em danos, causados por fitopatógenos, que vão desde a morte de plântulas pré e pós-emergência, até podridões nas raízes e na região apical, além de comprometer a sanidade e qualidade fisiológica das sementes como a redução do vigor, germinação e apodrecimento. A redução da qualidade fisiológica das sementes e o inóculo inicial das fitomoléstias podem depender da transmissão dos patógenos associados às sementes (GOLDFARB et al., 2010).

Alguns patógenos provocam perdas em campo, restringindo seus efeitos à redução de rendimento sem, no entanto, afetar a viabilidade das sementes, outros patógenos, além de provocarem reduções de rendimento, concentram seus efeitos danosos sobre as sementes. Como consequência direta, tem-se reduções de percentagem de germinação e do vigor, com reflexos altamente negativos sobre a aprovação de lotes de sementes, e ainda diminui a disponibilidade deste insumo para a semeadura seguinte (GOMES, 2012).

A associação de fungos fitopatogênicos em sementes é prejudicial em todas as fases de produção da cultura, por comprometer a qualidade sanitária das sementes (SANTOS et al., 2016), além de promover redução no potencial de germinação de sementes e comprometer resultados de trabalhos, sobre qualidade fisiológica, realizados em condições laboratoriais (CUNHA et al., 2017). Para eliminar ou reduzir o inóculo de fungos em

sementes, resultados eficientes têm sido obtidos por meio dos tratamentos químicos, biológicos e físicos (OLIVEIRA et al., 2011).

A presença de microrganismos após o ponto de maturação fisiológica, ou no armazenamento das sementes, é sempre uma séria ameaça à sanidade das sementes. Elevadas porcentagens de sementes infeccionadas estão associadas a um decréscimo no poder germinativo e menor desenvolvimento de plântula nos seus primeiros estádios (YORINORI, 1982). Também são responsáveis pela transmissão de doenças para a parte aérea e sistema radicular da planta, decréscimo na qualidade fisiológica e morte das plântulas resultantes (MACHADO, 2000).

A associação de patógenos em sementes pode desencadear uma série de complicações até provocar danos intoleráveis, dado ao potencial das sementes em transmitir diversos patógenos como fungos, bactérias, vírus e nematóides. Logo, as sementes são um dos principais veículos de sobrevivência e dispersão de patógenos (PEREIRA et al., 2015). Dentre os fitopatógenos disseminados pelas sementes, o grupo dos fungos caracterizam-se como os principais (MACHADO, 2000).

Na literatura constam vários estudos avaliando a qualidade sanitária de sementes de hortaliças, com a identificação dos gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Cephalosporium* sp., *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., sp., *Cladosporium* sp. e *Trichoderma* sp. em sementes de couve brócolis (*Brassica oleracea*) (GADOTTI et al., 2006). Paiva et al. (2016) identificaram a associação de *Aspergillus* spp. e *Rhizopus* spp. em sementes de alface e repolho. Em sementes de diferentes variedades de pimentão foram identificadas associações fúngicas dos gêneros *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. (VIEIRA et al., 2018).

Kikuti *et al.* (2005) trabalhando com sementes de pimentão observaram a incidência de *Cladosporium* sp., (0,5 a 2,0 %) porém, quando submetidas a teste de envelhecimento acelerado, com a assepsia após incubação, houve aumento percentual dos fungos *Aspergillus* spp., *Rhizopus* sp. *Cladosporium* sp., o que denota a permanência destes fungos na estrutura interna das sementes. Pinto *et al.* (2014), em trabalhos com sementes de pimenta Cambuci (*Capsicum baccatum* L. var. *pendulum*) ao avaliar diferentes tratamentos na desinfestação de sementes, observaram que as associações dos gêneros fúngicos *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp. e *Aspergillus* sp. foram controladas por todos os tratamentos, no entanto, o uso de nitrato de potássio embora não tenha interferido na germinação, foram favoráveis ao crescimento de fitopatógenos.

4 TRATAMENTO DE SEMENTES

O tratamento de sementes no sentido mais amplo envolve a aplicação de diversos processos e substâncias às sementes, objetivando preservar ou aperfeiçoar o seu desempenho com possíveis reflexos no desenvolvimento e na produtividade das plantas. O tratamento de sementes visa, além de controlar os fitopatógenos associados às sementes, proteger dos microrganismos presentes no solo, dos fungos de armazenamento e dos fitopatógenos que atacam as folhas iniciais, retardando o início da infecção (MONDEGO et al., 2014; VAZQUEZ et al., 2014).

Em campo, o tratamento de sementes pode garantir o aumento do rendimento, por contribuir com a formação de estandes homogêneos, como obtenção de plantas mais vigorosas, além de retardar o surgimento de sintomas de fitomoléstias (MENTEN; MORAES, 2010).

É de fundamental importância que os tratamentos de sementes controlem, ou diminuam a infecção por patógenos, mas não causem danos à qualidade fisiológica das sementes (FLÁVIO et al., 2014). O tratamento de sementes associado às medidas de controle integrado é uma técnica relevante dada a sua fácil execução, ao baixo custo em relação aos tratamentos de pré e pós-colheita, bem como, aos resultados eficazes que têm provido no controle de fitopatógenos (MACHADO, 2000).

Para o tratamento de sementes os métodos existentes estão divididos em: químicos, físicos e biológicos, além dos métodos pouco utilizados que também trazem benefícios às sementes como o condicionamento osmótico, a peletização e a peliculização (PEREIRA et al, 2015).

A utilização de métodos alternativos de controle de fitopatógenos tem sido uma forma de reduzir a dependência ao uso de produtos químicos nos sistemas de cultivo, ao passo, em que a agricultura enxerga a natureza como o sistema vivo que realmente é, pois ela responde a toda e qualquer interferência em sua dinâmica, estrutura e funções (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003).

O uso de métodos alternativos de controle como biológicos e físicos, além do químico, têm apresentado resultados significativos na eliminação ou redução do inóculo infectivo de fitopatógenos em sementes (SANTOS et al., 2016; CUNHA et al.; 2017).

O fato de controlar doenças antes de iniciar os sistemas de produção das culturas, ou durante a semeadura, torna o tratamento de sementes uma das medidas de controle mais

recomendadas na agricultura atual, dada a possibilidade de reduzir o uso de agrotóxicos, os custos de produção e, conseqüentemente, evitar problemas de poluição ambiental.

4.1 Quimioterapia

O controle de fitopatógenos associados a sementes ainda é realizado, em maior percentual, via tratamento químico, dada a sua considerável eficiência, com rápida resposta no controle das mais diversas doenças, embora os custos, em alguns casos, seja elevado, o efeito residual ao ambiental é considerado bem menor em relação aos sistemas convencionais com tratamentos de parte aérea da planta (FANTINEL et al., 2015; LEMES et al., 2016).

A aplicação dos fungicidas nas sementes, normalmente, é realizada antes do plantio, no entanto, também pode ser aplicada no final do beneficiamento (MENTEN; MORAES, 2010). A aplicação dos fungicidas nas sementes pode ser realizada de várias formas, como o uso de pó seco, pó molhável, pasta úmida ou solução aquosa, no caso de algumas hortaliças, o fungicida em forma de calda é aplicado rapidamente por imersão das sementes (PEREIRA et al., 2015).

De acordo com Juliatti (2010), houve avanços consideráveis no tratamento sementes com o uso de fungicidas, considerando os últimos 20 anos, em que grandes culturas como a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e o milho (*Zea mays* L.) saíram do percentual de tratamento de 5 % para 100 %. Além destas, outras culturas como os grãos de arroz (*Oryza sativa* L.), de trigo (*Triticum restivem* L.) e de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e as sementes de batata (*Solanum tuberosum* L.), também tiveram avanços no tratamento de sementes com produtos químicos.

Schoeninger e Bischoff (2014) afirmam que o ingrediente ativo em fungicidas aplicados no tratamento de sementes, se apresenta em pequenas concentrações, e é muito eficaz na proteção das sementes e no solo até sua germinação, além disso, também é favorável ao desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea das plântulas. Outro fator importante considerado pelos autores é que tal prática pode reduzir os custos de produção, tendo em vista, que favorece, em alguns casos, a redução das aplicações de fungicidas no pós-emergência.

Para alguns autores a utilização de agrotóxicos como método de controle de fitopatógenos em plantas é uma medida bastante utilizada, dada a facilidade de obtenção e manuseio, à obtenção de resultados eficientes, além de não exigir ter entendimento técnico sobre os agroecossistemas, sua dinâmica e processos ecológicos básicos que o envolvem

(TALAMINI; STADINIK, 2004). Entretanto, alguns entraves são considerados em relação a seu uso contínuo, principalmente sobre os possíveis impactos ao meio ambiente, bem como, aos mecanismos de resistência desenvolvidos pelos fitopatógenos ao princípio ativo de alguns compostos (MENDES et al., 2001).

Portanto, a crescente preocupação da população com a qualidade ambiental e com os padrões de produção agrícola, além da exigência por produtos saudáveis, tem levado à procura por informações sobre práticas alternativas de produção favoráveis à conservação da qualidade do meio ambiente.

4.2 Extratos vegetais

Considerando o uso constante de agrotóxicos nos sistemas de produção, bem como os problemas advindos dos resíduos ao meio ambiente e à saúde do ser humano, métodos alternativos de controle de patógenos vêm sendo adotados para minimizar estes impactos e produzir de forma mais sustentável, como o uso de compostos de plantas medicinais, desde o óleo aos extratos vegetais, que têm sido alternativas viáveis, de baixo custo e altamente eficientes no controle de fitopatógenos associados às sementes de hortaliças, grãos e espécies florestais (MEDEIROS et al., 2012; BRITO; NASCIMENTO, 2015).

As plantas apresentam uma diversidade de substâncias em sua composição, as pesquisas têm apontando os efeitos potenciais desses compostos, seja pela ação fungicida e/ou fungistática, entretanto, pesquisas mais aprofundadas devem ser realizadas dentre os métodos alternativos para serem recomendados ao uso direto pelo produtor, assim como, para servirem de matéria-prima na síntese de novos fungicidas (CELOTO et al., 2008).

Os vegetais apresentam metabolismos caracterizados pela constante transformação das moléculas orgânicas, dentro das células vivas, realizada por enzimas catalizadoras, processo que supre a necessidade energética do organismo, renova suas moléculas e garante a manutenção do estado organizado (MARZZOCO; TORRES, 2007). As necessidades das células são supridas pelas ações de uma especificidade de enzimas que atuam nas diferentes vias metabólicas, necessárias ao melhor aproveitamento dos nutrientes (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os metabolitos secundários são produzidos pelas plantas por meio da interação com o ambiente, dada a perturbações físicas, químicas ou biológicas, normalmente são estruturalmente complexos, de baixo peso molecular e, contrário aos metabolitos primários, não se expressam em todo grupo de plantas, e é comum se apresentarem em baixas concentrações (BERG; LUBERT, 2008). Dentre os metabolitos secundários de relevância

ao homem, aos animais e as plantas, estão os taninos, terpenóides, alcalóides, flavonóides, óleos essenciais, fenóis e as saponinas (COWAN, 1999; RODRIGUES et al., 2016). Estes compostos podem apresentar atividade antifúngica e têm sido estudados para desenvolvimento de produtos fitossanitários.

Os estudos científicos com plantas são importantes, devido à grande quantidade de compostos produzidos com diferentes princípios ativos que podem apresentar potencial de uso nos sistemas de produção agrícola em detrimento aos químicos, com ativação dos mecanismos de defesa da planta ao produzir metabólitos secundários (MAZARO et al., 2013). Dentre os metabólitos secundários, como exemplo, estão as fitoalexinas, com ação antimicrobiana, ativadas pela plantas em situações de perturbação física, química ou biológica, provocam nos fungos granulação citoplasmática, desestruturação celular, quebra da membrana plasmática, além de inibir a ação enzimática dos fungos impedindo e/ou reduzindo a germinação e esporulação e o crescimento micelial (MAZARO et al., 2013).

As pesquisas têm apontado o uso de extratos vegetais como método de controle alternativo de doenças de plantas, com obtenção de resultados eficientes no controle de microrganismos fitopatogênicos de natureza fúngica, principalmente os veiculados por sementes. No controle de fitopatógenos em sementes, Medeiros et al. (2012) atestaram que os compostos de óleo de erva doce (*Pimpinella anisum* L.) e os extratos de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) e alamanda (*Allamanda cathartica* L.) foram eficientes, na redução da microflora fúngica, em sementes de flamboyantmirim (*Caesalpinia pulcherrima* Swartz.) e ainda promoveram aumento no potencial de germinação. Coppo et al. (2017) ao estudarem o efeito de extratos vegetais de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em sementes de soja, obtiveram redução na incidência dos fungos *Fusarium* spp., *Colletotrichum dematium*, provocada pelos extratos vegetais sem afetar a germinação, sendo promissores no controle alternativo de doenças em sementes de soja.

Em ensaios *in vitro*, Marcondes et al. (2014) verificaram redução do crescimento micelial e da taxa de germinação dos conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, com extratos de alho e cravo-da-índia a 20 %, e de *Fusarium moniliforme* com extratos de alho na concentração de 20 %. Brito e Nascimento (2015) atestaram o potencial fungitóxico dos extratos de alho, citronela, gengibre e nim no controle de *Curvularia eragrostidis in vitro*, onde todos os extratos nas concentrações de 25 % a 45 % foram eficientes na inibição do crescimento micelial, germinação e esporulação do patógeno.

4.3 Termoterapia

O método físico de tratamento de sementes, via termoterapia, é um dos mais promissores, pois possui potencial de erradicar infecções profundas e não é um poluente ambiental, entretanto, não promove proteção residual após o tratamento, além do risco de provocar lesões na semente, por deteriorar mais rapidamente durante o armazenamento em comparação às não tratadas (COUTINHO et al., 2007). Porém, o Ministério da Agricultura ainda é deficiente no registro de produtos químicos com eficácia e segurança para o tratamento de sementes de hortaliças, dessa forma, a busca por meios alternativos aos produtos químicos faz do tratamento térmico uma opção em potencial (BRAGA et al., 2010).

A termoterapia tem como pressuposto básico a relação existente entre as diferenças de sensibilidade do patógeno e do hospedeiro quando submetidos a diferentes níveis de intensidade de calor e tempo. Cabe ressaltar que a eficiência dessa relação está associada aos pontos térmicos letais obtidos para o patógeno e o hospedeiro, ou seja, quanto maior for o ponto térmico letal da semente, (sua capacidade de resistir às diferenças de temperatura e tempo), em relação ao ponto letal térmico do patógeno, maior será a eficiência do método (COUTINHO et al., 2007; PEREIRA et al. 2015). Para tanto é preciso encontrar o ponto ideal da relação temperatura e tempo que possa controlar os fitopatógenos associados às sementes sem afetar a qualidade fisiológica (VIEIRA et al., 2011).

Braga et al (2010), em estudo com termoterapia e sua influência na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de tomate, verificaram que o tratamento com água quente a 55 °C / 30 min, foi eficiente no controle dos fungos em associação com as sementes, *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp., sem afetar a qualidade fisiológica.

Na literatura, vários estudos verificaram a eficiência da termoterapia no controle de fitopatógenos em sementes de diferentes culturas, como no tratamento de sementes de tomate (SILVA, 2015), de abóbora (CUNHA et al., 2017), de erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) (GAMA et al., 2014), de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) (VIEIRA et al., 2011), de soja (SANTOS et al., 2016), do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (ESTEFANI et al., 2007), de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (SCHNEIDER et al., 2015) e mamoneira (*Ricinus communis* L.) (MARRONI et al., 2009); e também no tratamento de sementes de espécies arbóreas como as de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (FRANÇOSO; BARBEDO, 2014) e de canafístula [*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.] (LAZAROTTO et al., 2013).

Outras pesquisas, historicamente, já vêm relatando que tratamentos utilizando diferentes tempos de exposição e temperaturas semelhantes diminuem a incidência de fungos, sem reduzir a germinação e o vigor em sementes de tomate (MUNIZ, 1990; IKUTA, 1990; LEWIS IVEY; MILLER, 2005), cenoura (PRYOR et al., 1994), pimentão (MORAES; MENTEN, 1987); melão e abóbora (SHAHDA et al., 1995); espinafre (*Spinacia oleracea* L.) (TOITE; HERNANDEZ-PEREZ, 2005) e quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench.] (MARTINS et al., 2011).

Françoso e Barbedo (2014), em estudos com tratamentos térmicos e osmóticos, verificaram que os tratamentos térmicos (55 °C/120 min; 60 °C/120min) promoveram a redução na incidência da maioria dos fungos presentes nas sementes de grumixameira e pitangueira, exceto *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp., porém com a associação ao osmótico obteve-se resultados satisfatórios. Os autores ainda consideram que, para a realização do controle, os tratamentos estão sujeitos às diferentes sensibilidades da semente e do fungo ao estresse hídrico e da relação tempo e temperatura, portanto, mais estudos precisam ser realizados.

4.4 Controle Biológico

O controle biológico no tratamento de sementes é uma mistura ou agregação de um agente biológico às sementes. Basicamente, esse meio de controle acontece pela relação antagônica, de microrganismos incorporados às sementes, que provoca extinção, redução ou interferência nos mecanismos de ação dos fitopatógenos associados às sementes e ainda dos patogênicos de solo (PEREIRA et al., 2015).

A adoção do controle biológico no manejo de doenças tem sido crescente, seja pelo uso de estratégias diretas com microrganismos antagônicos de fitopatógenos presentes em sementes, no solo, em estruturas de propagação vegetativa, além da parte aérea da planta e indiretas como a incorporação de matéria orgânica (SCHURT et al., 2017).

Os microrganismos, atualmente, utilizados como agentes de controle biológico têm grande potencial de redução e/ou substituição do uso de agrotóxicos no controle de doenças radiculares (VIEIRA et al., 2016). Os microrganismos apresentam-se na biota em grande diversidade, muitos com relações antagônicas a fitopatógenos, tornando-se cada vez mais relevantes para o uso como agentes de biocontrole (LANNA FILHO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2016).

Os mecanismos de ação de microrganismos antagônicos ocorrem de formas variadas tanto sobre os fitopatógenos, quanto sobre os vegetais, atuando nestes, pelo estímulo aos

mecanismos de defesa da planta e /ou indução de resistência e, naquele por afetarem os mecanismos de sobrevivência do patógeno (LANNA FILHO, 2010).

Para Garcia et al. (2015) os benefícios das relações existentes entre microrganismo ainda são pouco explorados em estudos voltados à produção agrícola, muito embora, se tenha uma necessidade global de discutir e difundir mecanismos sustentáveis para o equilíbrio ecossistêmico que possam fomentar o Manejo Integrado de Doenças e Pragas.

Estudos sobre as interações de bactérias antagonistas, patógenos e hospedeiros vem sendo realizados para uso como agentes de biocontrole em doenças de plantas (MACIEL et al., 2017; BRAGA JUNIOR et al., 2017; DE SÁ et al., 2019). Dentre os agentes de biocontrole com grande potencialidade estão as rizobactérias (LUDWIG, et al., 2013), como as do gênero *Bacillus*.

Em relação às rizobactérias, com potencial de biocontrole, as *Pseudomonas* do grupo das fluorescentes (*P. putida* e *P. fluorescens*), assim como, os *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. e correspondentes da família *Enterobacteriaceae*, são os gêneros antagonísticos com maior representatividade (CAMPOS SILVA et al., 2008). O gênero *Bacillus* spp. pertence ao Domínio Bactérias, Classe *Bacilli*, Família *Bacillaceae*, gram positiva (MADIGAN et al., 2004) e, tem destaque dentre os outros gêneros, pois além de formar endósporo é um antagonista com múltiplos mecanismos de ação, tais características o permite viver em nichos ecológicos diferenciados e combater com versatilidade os mecanismos de defesa dos fitopatógenos (LANNA FILHO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2016).

Em estudos realizados por Braga Júnior et al. (2017), pra testar o potencial antagonístico de sete isolados de *Bacillus subtilis* verificaram pelo método dos metabólitos termoestáveis que 71,4 % dos isolados (UFTBs 01, UFTBs 04, UFTBs 05, UFTBs 06 e UFTBs 07) inibiram o crescimento micelial de *Fusarium subglutinans*, *Curvularia lunata* e *Bipolaris* spp. tendo como mecanismo principal de ação a antibiose. Kupper et al. (2013) verificaram que o isolado de *Bacillus subtilis* (ACB-84) inibiu em 72 % a germinação *Penicillium digitatum* agente causal do bolor verde, nos citrus. Schurt et al. (2017) estudaram os efeitos de tratamentos químicos e biológicos em sementes de feijão caupi para o controle da mela (*Rhizoctonia solani* kuhn) e verificaram o potencial dos tratamentos com isolados de *B. subtilis* no controle da mela do feijão caupi, ao promover redução na severidade da doença e diminuição da desfolha. Oliveira et al. (2016) verificaram a atividade fungitóxica dos antagonistas *Trichoderma* sp. e *B. subtilis* no crescimento *in vitro* de *Colletotrichum musaea* (Berk. & M. A. Curtis) Arx, (1957), agente causal da antracnose da banana com cerca de 84,0 e 74,0 % de reduções, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, R. H.; FANTINATTI, J. B.; GROTH, D.; USBERTI, R. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p.134-139, 2001.
- ALI, A.; ROOSSINCK, M.J. Genetic bottlenecks during systemic movement of Cucumber mosaic virus vary in different host plants. **Virology**, v.404, p.279-283, 2010.
- ALMEIDA, I. M. G.; MALAVOLTA JR. V. A.; ROBBS, C. F. Cancro bacteriano do pimentão: infecção sistêmica com transmissão por sementes. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.22, n.2, p.112-115, 1996.
- ALMEIDA, E.N.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G. Potenciais alternativas com extratos vegetais no controle da pinta preta do tomateiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.12, n.4, p.687-694, 2017.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTALIÇAS. **Brazilian Vegetable Yearbook**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 56p. 2017.
- ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA): relatório de atividades de 2013 a 2015. Brasília, DF, 2016. Disponível em: Disponível em: <<https://bit.ly/2J1BFsn>>. Acesso em: 6 jan. 2019.
- ARLINDO, D.M.; QUEIROZ, A.J.M.; FIGUEIREDO, R.M.F. Armazenamento de pimentão em pó em embalagem de polietileno. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.9, n.2, p.111-118, 2007.
- AZEVEDO, C.P.; CAFÉ FILHO, A. C.; HENZ, G.P.; REIS, A. Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas. **Embrapa Hortaliças**, Brasília, DF, dez. 2006. (Comunicado Técnico 35).
- BERG, J.M.T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p. 2008.
- BRAGA JUNIOR, G. M.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; CHAGAS, L. F. B.; CARVALHO FILHO, M. R.; MILLER, L. O.; L. O.; SANTOS, G. R. Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 7, n. 3, p. 45-51, 2017.
- BRAGA, M. P.; OLINDA, R. A.; HOMMA, S. K; DIAS, C. T. Relações entre tratamento térmico, germinação, vigor e sanidade de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p.101-110, 2010.

- BRITO, N.M.; NASCIMENTO, L.C. Potencial fungitóxico de extratos vegetais sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) Meyer *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.2, p.230-238, 2015.
- BÜTTOW, M. V. BARBIERI, R.L.; NEITZKE, R.S. HENDEN, G.; CARVALHO, F.I.F. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n.6, p.1264-1269, 2010.
- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna SP: Embrapa Meio Ambiente, 2003. 279 p.
- CAMPOS SILVA, J.R.; SOUZA, R.M.; ZACARONE, A.B.; SILVA, L.H.C.P.; CASTRO, A.M.S. Bactérias endofíticas no controle e inibição *in vitro* de *Pseudomonas syringae* pv tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1062-1072, 2008.
- CARRIZO, G.C.; STERPETTI, M.; VOLPI, P.; UMMARINO, M.; SACCARDO, F. **Wild Capsicums: identification and in situ analysis of Brazilian species**. EUCARPIA Meeting on genetics and breeding of Capsicum and Eggplant. XVth. Torino, Italy, p.205-213, 2013.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L.B. **Sistema de produção de pimentas (*Capsicum spp.*)**. Botânica, Embrapa Hortaliças, Sistemas de produção, v. 2. ISSN 1678-880x, 2007.
- CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.S.F.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.30, n.1, p.1-5, 2008.
- CENÁRIO HORTIFRUTI BRASIL. 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/wp-content/uploads/2019/09/Relatorio-Hortifruti.pdf>>. Acesso em: set. 2019.
- COPPO, J. C.; MIORANZA, T. M.; COLTRO-RONCATO, S.; STARGALIN, J. R.; KUHN, O. J. K.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Sanidade e germinação de sementes de soja tratadas com extratos de plantas e de fungo. **Rev. Ciênc. Agroamb.** v.15, n.2, 2017.
- COSTA L. V.; LOPES M. T. G.; LOPES R.; ALVES S. R. M. Polinização e fixação de frutos em *Capsicum chinense* Jacq. **Acta Amazonica**, Manaus, v.38, n.2, p.361-364, 2008.
- COSTA, N.J.F.; SILVA, M.S.B.S.; RODRIGUES A.A.C.; OLIVEIRA L.J.M.G.; SANTOS F.N. Fungos associados às sementes de alface e pimentão. **Horticultura Brasileira**, v.31, p.S0656-S0663, 2014.
- COUTINHO, W. M.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, C. F.; MACHADO, J. C. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho submetidas à

- termoterapia e condicionamento fisiológico. **Fitopatologia Brasileira** [online], v. 32, p. 458-464, 2007. ISSN 0100-4158. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582007000600002>>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical microbiology Reviews**, Washington, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.
- CUNHA, R. P.; CARVALHO, I. L.; OLSEN, D.; VIEIRA, J. F.; SOARES, V. N.; TUNES, L. M. Termoterapia no controle de patógenos associados às sementes de abóbora. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.11, n.2, p.53-57, jun., 2017.
- DE SÁ, M. N. F.; LIMA, J. S.; JESUS, F. N.; PEREZA, J. O.; GAVA, C. A. T. Seleção in vitro de agentes de biocontrole visando o controle de *Fusarium* sp. **Acta Brasiliensis**, v.3, n.1, p.14-16, 2019.
- ESTEFANI, R. C. C.; MIRANDA FILHO, R. J.; UESUGI, C. H. Tratamentos térmico e químico de sementes de feijoeiro: eficiência na erradicação de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* e efeitos na qualidade fisiológica das sementes. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 5, p.434-438, 2007.
- FANAN, S.; MEDINA, P. F.; CAMARGO, M. P.; RAMOS, N. P.; RAMOS, N. P. Influência da colheita e do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 1, p. 150-159, 2009.
- FANTINEL, V. S.; MUNIZ, M. F. B.; POLETTO, T.; DUTRA, A. F.; KRAHN, J. T.; FAVARETTO, R. F.; SARZ, J. S. Biocontrole in vitro de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v.16, n.3, p.43-50, 2018.
- FANTINEL, V. S.; OLIVEIRA, L. M.; CASA, R. T.; ROCHA, E. C.; SCHNEIDER, P. F.; D. V.; Tratamentos de sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*): efeito na incidência de fungos e na germinação. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 13, n. 2, p.84-89, abr./jun. 2015.
- FAO. Faostat – Crops. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 06 jan. 2019.
- FLÁVIO, N.S.D.S.; SALES, N.L.P.; AQUINO, C.F.; SOARES, E.P.S.; AQUINO, L.F.S.; CATÃO, C.R.M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina v.35, n.1, p.7-20, 2014.

- FRANÇA, G. S.; CARVALHO, R. R. C.; NEVES, R. P.; ARAUJO, E. R.; LARANJEIRA, D. Controle pós-colheita da antracnose do pimentão pela levedura *Rhodotorula glutinis*. **Biosci. J.**, Uberlândia, v.31, n.2, p.451-459, mar./apr. 2015.
- FRANÇOSO, C.F.; BARBEDO, C.J. Tratamentos osmóticos e térmicos para controle de fungos em sementes de grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lam.) e pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Hoehnea**, v.41, n.4, p.541-552, 2014.
- GADOTTI, G.I.; CORRÊA, C.L.; LUCCA FILHO, O.; VILLELA, F.A.; Qualidade de sementes de couve e brócolis beneficiadas em mesa densimétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.123-127, 2006.
- GAMA, J. S. N.; NETO, A. C. A.; BRUNO, R. L. A.; PEREIRA JÚNIOR, L. R.; MEDEIROS, J. G. F. Termoterapia no tratamento de sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.): efeito sobre a qualidade fisiológica e sanitária. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 4, p. 842-849, out-dez, 2014.
- GARCIA, T. V.; VARGAS, T.; NEIVA KNAAK¹, LIDIA MARIANA FIUZA* Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.82, p.1-9, 2015.
- GOLDFARB, M.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. R. M. C.; NASCIMENTO, L. C.; BRITO, N. M.; SOUTO, F. M. Incidência de fungos e qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) após o armazenamento criogênico. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.19-26, 2010.
- GOMES, D. P. **Incidência de *Pyricularia grisea* em genótipos de trigo em função da quantidade de inóculo inicial no campo: avaliação de danos e métodos de detecção nas sementes**. 2012. 132 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.
- HEIDEN, G.; BARBIERI, R.L.; COUTO, M.E.O.; MEDEIROS, A.R.M.; SINIGAGLIA, C. Pimentas e pimentões do sul do Brasil: variedades crioulas mantidas pela Embrapa Clima Temperado. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.2, n.1, p.841-844, 2007.
- IKUTA, J. **Tratamento térmico de sementes e de tecidos de tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill.) infectados por *Clavibacter michiganense* subsp *michiganense* (Smith) Davis et al e efeito de diferentes temperaturas sobre a bactéria cultivada “in vitro”**. 1990. 109 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 1990.

- JULIATTI, F.C. **Avanços no Tratamento e Recobrimento de Sementes:** Avanços no Tratamento Químico de Sementes. Londrina: Informativo ABRATES, v. 20, n.3, 2010.
- KIKUTI, A. L. P.; MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D.; OLIVEIRA, S. R. S. Interferência da assepsia em sementes de pimentão submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.2, p.44-49, 2005.
- KUPPER, K. C.; CERVANTES, A. L. L.; KLEIN, M. N.; SILVA, A. C. Avaliação de microrganismos antagonistas, *Saccharomyces cerevisiae* e *Bacillus subtilis* para o controle de *Penicillium digitatum*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 2, p. 425-436, Junho, 2013.
- KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; RESENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia:** doenças das plantas cultivadas. 4.ed. São Paulo: Ceres, v.2: Doenças das plantas cultivadas, p.607-626, 2005.
- LAGUNA, L. E.; EGITO, A. S.; BENEVIDES, S. D.; SANTOS, K. M. O.; LIMA, A. R. **Queijo de Cabra Maturado Adicionado de Pasta de Pimentão.** Sobral, CE: EMBRAPA, set. 2011. 4p. (Embrapa, Comunicado Técnico, 125).
- LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, p.12-20, 2010.
- LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B.; BELTRAME, R.; SANTOS, A.F.; MÜLLER, J.; ARAÚJO, M.M. Tratamentos biológico e químico em sementes de *Cedrela fissilis* para controle de *Rhizoctonia* sp. **Cerne**, v.19, n.1, 2013.
- LEMES, E. S.; ASSIS, D. B.; TAVARES, L. C.; BENATTO JUNIOR, J. C.; OLIVEIRA, S.; TUNES, L. M.; MENEGHELLO, G. E. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja tratadas com essência de suco de laranja. **Tecnologia. & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.10, n.2, p.74-82, 2016.
- LEWIS IVEY, M. L.; MILLER, S. A. Evaluation of hot water seed treatment for the control of bacterial leaf spot and bacterial canker on fresh Market and processing tomatoes. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 695, p.197-204, 2005.
- LOBO JÚNIOR, M.; SILVA-LOBO, V.L.; LOPES, C.A. Reação de genótipos de *Capsicum* spp. (pimentas e pimentão) à antracnose *Colletotrichum gloeosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, p.373, 2001. (suplemento).
- LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant**

Pathology, Brasília, v.38, n.3, p. 264-268, June, 2013. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762013005000007>.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 138 p., 2000.

MACIEL, C. G.; MUNIZ, M. F. B.; ROLIM, J. M.; MICHELON, R. M. D. N; POLETTO, T.; RABUSKE, J. E. Uso da microbiolização contra *Lasiodiplodia theobromae* em sementes de pinus spp. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 47, n. 1, p. 121 - 128, jan. / mar. 2017.

MADIGAN, M. T.; MARTINHO, J. M.; PAKER, J. M. **Microbiologia de Brock**. 10ª Ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MARCONDES, M.M. et al. Influência de diferentes extratos aquosos de plantas medicinais no desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 896-904, Dec. 2014.

MARRONI, I.V.; ZANATTA, Z.G.C.N.; CASAGRANDE JUNIOR, J.G., UENO, B.; MOURA, A.B. Efeito do tratamento com calor seco e água quente sobre a germinação e controle de micro-organismos associados às sementes de mamoneira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.761-767, out./dez., 2009.

MARTINS, C. A. S.; LOPES, J. C.; MACÊDO, C. M. P. Tratamentos pré-germinativos em sementes de quiabo em diferentes estádios de maturação do fruto. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, p.1759-1770, 2011.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.736, 2007.

MAZARO, S.M.; FOGOLARI, H.; WAGNER JÚNIOR, A.; CITADIN, I.; SANTOS, I. Potencial de extratos à base de *Calendula officinalis* L. na indução da síntese de fitoalexinas e no efeito fungistático sobre *Botrytis cinerea*, *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.2, p.208-216, 2013.

MEDEIROS, J. G. F.; SILVA B.B.; ARAÚJO NETO, A.C.; NASCIMENTO, L.C. Fungos associados com sementes de flamboyant-mirim (*Caesalpinia pulcherrima*): incidência, efeito na germinação, transmissão e controle. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.32, n.71, p. 303-308, jul./set. 2012.

MENDES, M.A.S.; LIMA, P.M.M.; FONSECA J.N.L.; SANTOS, M.F. Erradicação de *Fusarium oxysporum* em sementes de alfafa utilizando termo e quimioterapia.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.26, n.2, p.148-152, 2001.

- MENTEN, J.O.; MORAES, M.H.D. Avanços no Tratamento e Recobrimento de Sementes: Tratamento de Sementes: Histórico, Tipos, Características e Benefícios. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.20, n.3, 2010.
- MODENA, C.M; RUFATTO, L.C.; PANSERA, M. R.; SILVA-RIBEIRO, R.T.;
- SARTORI, V. C. Management of yellow pepper through the use of alternative control and biological. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, Porto Alegre/RS, 2013.
- MONDEGO, J. M.; MELO, O. A. F. R.; PINTO, K. M. S.; NASCIMENTO, L. C.;
- ALVES, E. U. BATISTA, J. L. Controle alternativo da microflora de sementes de *Pseudobombax marginatum* com óleo essencial de copaíba (*Copaifera* sp.). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.2, p. 349-355, Mar./Apr. 2014.
- MONTEIRO NETO; J. L. L.; ARAÚJO, W. F; VILARINHO, L. B. O.; SILVA, E. S.;
- ARAÚJO, W. B. L.; SAKAZAKI, R. T. Produção de mudas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) em diferentes ambientes e substratos. Agrária - **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, PE, UFRPE, v. 11, n. 4, p. 289-297, 2016.
- MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Possibilidades da termoterapia no tratamento de sementes de hortaliças. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.13, n.1-2, p.17, 1987.
- MUNIZ, M. F. B. **Controle de microorganismos associados às sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum*L.) através do calor seco**. 1990. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, 1990.
- OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.
- OLIVEIRA, M.D.M.; NASCIMENTO, L.C.; ALVES, E.U.; GONÇALVES, E.P.;
- GUEDES, R.S.; SILVA NETO, J.J. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Amburana cearenses* A.C. Smith submetidas à termoterapia e tratamento químico. **Acta Scientiarum**. Agronomy, Maringá, v.33, n.1, p.45-50, 2011.
- PAIVA, C.T.C.; SILVA, J. B.; DAPONT, E.C.; ALVES, C.Z.; CARVALHO, M.A.C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. R. **Revista de Ciências Agroambientais**, Alta Floresta, MT, v.14, n.1, p.53-59, 2016.
- PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; MOURA, M.F.; KUROZAWA, C. DOENÇAS DAS SOLANÁCEAS. IN: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.;
- CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, cap.68, p.677-686, 2016.

- PEREIRA, C. O. **Qualidade fisiológica de sementes de pimentão em função do estágio de colheita, período de repouso de frutos e armazenamento.** 2009. 90 p. Dissertação Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2009.
- PEREIRA, K. C.; REDA S. F.; PIVETA, G.; GARCIA, F. A. O. Avaliação de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes e mudas de *Schinus molle*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 85, p. 71-78, jan./mar. 2016.
- PEREIRA, R. B.; SILVA P. P.; NASCIMENTO, W. M. PINHEIRO, J. B. Tratamento de sementes de hortaliças. Brasília, DF: EMBRAPA, mar. 2015, 16 p. (Embrapa, Circula Técnica, 140).
- PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology**, v.3, n.4, p.146-152, 2012.
- PICKERSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. **Euphytica**, v.96, p.129-133, 1997.
- PICKERSGILL, B. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (*Genus Capsicum*). **Evolution**, v.25, n.4, p.683-691, 1971.
- PINTO, K. M. S.; BARBOSA, L. A. FERREIRA, D. S.; NASCIMENTO, L. C.; RÊGO, E. R.; BRUNO, R. L. A. Sanidade e fisiologia de sementes de pimenta cambuci *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* tratadas com extrato de *Lippia microphylla*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.3, p.743-749, May/June, 2014.
- PIVETA, G.; MENEZES, V. O.; PEDROSO, D. C.; MUNIZ, M. F. B.; BLUME, E.; WIELEWICKI, A. B. Superação de dormência na qualidade de sementes e mudas: influência na produção de *Senna multijuga* (L. C. Rich.) Irwin & Barneby. **Acta Amazônica**, Manaus, v.40, n.2, p.281-288, 2010.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** Ministério da Agricultura, Brasília: AGIPAN, 289 p., 1977.
- PRYOR B. M.; DAVIS, R. M.; GILBERTSON, R. L. Detection and eradication of *Alternaria radicina* on carrot seed. **Plant Disease**, Saint Paul, v.78, p.452-454, 1994.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.) *Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil.* Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000.
- REVERBERI, M.; RICELLI, A.; ZJALIC, S.; FABBRI, A.A.; FANELLI, C. Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.87, n.3. p.899-911, 2010.

RODRIGUES, F. A.; PIMENTA, V. S. C.; BRAGA, K. M. S.; ARAÚJO, E. G. **Obtenção de extratos de plantas do cerrado**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13, n. 23, 870 p., 2016.

ROSELINO, A. C.; SANTOS, S. A. B.; BEGO, L. R. Qualidade dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.) a partir de flores polinizadas por abelhas sem ferrão (*Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepelletier 1836 e *Melipona scutellaris* Latreille 1811) sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p. 154-158, abr./jun, 2010.

SÁ, D.A.C.; SANTOS, G.R.; FURTADO, G.Q.; ERASMO, E.A.L.; NASCIMENTO, I.R. Transporte, patogenicidade e transmissibilidade de fungos associados às sementes de pinhão manso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, p.663-670, 2011.

SALLES, M.R.M.; KIMURA, O.; RIBEIRO, R.L.D.; AKIBA, F. XXIV. Sementes: importante fonte de inoculo de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* para culturas comerciais de pimentão no Brasil. 24º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Belo Horizonte. *Fitopatologia Brasileira*, v.16, n.1, p.41. 1991.

SANTOS, L.A.; FARIA, C.M.D.R.; MAREK, J.; DUHATSCHEK, E.; MARTINICHEN, D. Radioterapia e Termoterapia como tratamentos de sementes de soja. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, Guarapuava-PR, v.9, n.2, p.37-44, 2016.

SCHNEIDER, C. F.; GUSATTO, F. C.; MALAVASI, M. M.; STANGARLIN, J. R.; MALAVASI, U.C. Termoterapia na qualidade fisiológica e sanitária de sementes armazenadas de pinhão-manso. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.1, p.47-56, jan./fev., 2015.

SCHOENINGER, V.; BISCHOFF, T. Z. Tratamento de sementes. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n. especial, p.63-73, 2014.

SCHURT, D.; SEABRA, S. S. S.; SILVA, A.D.; STÉFANNY A. M.; MEDEIROS, F. H. V. Tratamentos químicos e biológicos de sementes para Controle da mela do feijão-caupi. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas-TO, v.3, n.1, 2017.

SHAHDA, W. T.; AL-RAMA, A. N.; RAGEH, S. A. Damping off of some curcubitaceous crops in Saudi Arabia with reference to control methods. **Journal of Phytopathology**, Hamburg, v.143, p.59-63, 1995.

SILVA, M. S. B. S. **Redução de fitopatógenos associados às sementes de tomate através do tratamento térmico**. 2015. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Estadual do Maranhã, São Luís, 2015.

- SILVA, W.F.; MARQUES, D.J.; SILVA, E.C.; BIANCHINI, H.C.; ISHIMOTO, F.A.; PEREIRA JÚNIOR, M.J.F. Diagnóstico da produção de hortaliças na região metropolitana de Belo Horizonte. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.33, n.3, p.368-372, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620150000300015>.
- TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Extratos Vegetais e de Algas no Controle de Doenças de Plantas. In: TALAMINI, V. & STADNIK, M. J. **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. Florianópolis, SC: CCA/UFSC, p.45-62, 2004.
- TOITE, L. J.; HERNANDEZ-PEREZ, P. Efficacy of hot water and chloride for eradication of *Cladosporium variable*, *Stemphuliumbotryosum*, and *Verticilliumdahliae* from spinach seed. **Plant Disease**, São Paulo, v.89, p.1305-1312, 2005.
- TRECHA, C.O.; LOVATTO, P. B.; MAUCH, C. R. Entraves do cultivo convencional e as potencialidades do cultivo orgânico do pimentão no Brasil. **Revista Thema**, Pelotas, RS. v.14, n.3, p.291-302, 2017.
- VAZQUEZ, G. H.; CARDOSO, R. D.; PERES, A. R. Tratamento químico de sementes de milho e o teste de condutividade elétrica. **Biosci. J.**, Uberlândia, v.30, n.3, p.773-781, May/June, 2014.
- VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C.; PARENTE, G. B. **Controle das Principais Doenças do Pimentão Cultivado nas Regiões Serranas do Estado do Ceará**. 1ed. Fortaleza, CE: EMBRAPA, dez. 2007. 4 p. (Comunicado Técnico, 132).
- VIEIRA, B.N.P.; SANTOS, B.R.; SOUSA, B.C.M; VIEIRA, T.A.; LUSTOSA, D.C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de pimentão comercializadas em Santarém, Pará. **Agroecossistemas**, v.10, n.1, p.241-252, 2018. ISSN online 2318-0188.
- VIEIRA, B. S.; VIEIRA, H. M. P.; SOUSA, L. A.; MENDONÇA, K. D. R. Potencial antagonístico de *Bacillus subtilis* (bsv-05) contra os patógenos radiculares do feijoeiro: *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v.14, n.1, p.59-66, 2016.
- VIEIRA, J.F.; ABREU, M.S.; MAIA, F.G.M.M.; OGOSHI, C.; PIERRE, R.O.; CARVALHO, E.A.; SILVA, B.M. Mancha manteigosa causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em cafeeiro *coffea arabica* L. **Acta Ambiental Catarinense**, v. 8, n.1/2, 2011.
- YORINORI, J.T. Doenças da soja causadas por fungos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.94, p.40-46, 1982.

CAPÍTULO II

**MÉTODOS ALTERNATIVOS DE TRATAMENTOS DE SEMENTES NO
CONTROLE DE FITOPATÓGENOS NA CULTURA DO PIMENTÃO**

REVISTA ACTA AMAZONICA

Métodos alternativos de tratamento de sementes no controle de fitopatógenos na cultura do pimentão

Geusa Fonseca DOURADO^{1*}; Antônia Alice C. RODRIGUES¹

¹Programa de Pós-Graduação em Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, nº 1000 - Bairro: Jardim São Cristovão CEP 65055-310, São Luís-MA. *geusadourado@gmail.com.

RESUMO: Fungos fitopatogênicos em sementes podem comprometer sua qualidade sanitária e fisiológica. Este estudo avaliou a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de pimentão e o uso de métodos alternativos via termoterapia, extratos vegetais, produtos químicos e biológicos, no controle dos fitopatógenos nessas sementes. Os experimentos *in vitro* consistiram da avaliação do efeito dos tratamentos aplicados nas sementes sobre a germinação e o controle do crescimento dos fitopatógenos identificados. Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram plaqueadas, incubadas e avaliadas com sete dias. O experimento *in vivo*, foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com os tratamentos que provocaram maior redução nos fitopatógenos nas sementes. As sementes tratadas foram plantadas e, após 30 dias, as plantas foram pulverizadas com suspensão de *Colletotricum gloeosporioides*. Para avaliação da severidade adotou-se escala de nota específica para o patossistema. Os tratamentos com melhor controle de fitopatógenos nas sementes foram extrato aquoso de manjerição 5 %, termoterapia 45 °C 25 min., os produtos comerciais Tiofanato Metílico e Quality® e o isolado de *B. methylotrophicus*, B47. No manejo da antracnose, os resultados foram significativos para o extrato de manjerição, o isolado B47 e o produto

Quality® que promoveram redução da severidade da doença em plantas de pimentão ($p < 0,008$). Estes resultados são potenciais para o tratamento de sementes de pimentão e, possível suporte ao uso em programas de Manejo Integrado de Doenças.

Palavras-chave: Sanidade de sementes, antracnose, extratos vegetais, termoterapia e agentes biológicos.

ABSTRACT: Phytopathogenic fungi in seeds may compromise their sanitary and physiological quality. This study evaluated the health and physiological quality of bell pepper seeds and the use of alternative methods through thermotherapy, plant extracts, chemicals and biologicals in the control of phytopathogens in these seeds. experiments consisted of evaluating the effect of seed treatments on germination and growth control of identified phytopathogens. After the treatments were applied, the seeds were plated, incubated and evaluated at seven days. The *in vivo* experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized design with the treatments that caused the greatest reduction in phytopathogens in the seeds. The treated seeds were planted and after 30 days the plants were sprayed with suspension of *Colletotricum gloeosporioides*. For severity assessment, a pathosystem-specific grade scale was adopted. The treatments with better control of phytopathogens in the seeds were aqueous basil extract 5%, thermotherapy 45 ° C 25 min. In the management of anthracnose, the results were significant for basil extract, B47 isolate and Quality® product that promoted reduction of disease severity in sweet pepper plants ($p < 0.008$). These results are potential for the treatment of bell pepper seeds and possible support for their use in Integrated Disease Management programs.

Key words: Plant phytosanitary, anthracnose, plant extracts, thermotherapy and biological agents.

INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annum* L.) que pertence à família das Solanáceas tem grande importância socioeconômica no Brasil, por ser uma das hortaliças mais consumidas e cultivadas no país (Monteiro Neto *et al.* 2016). Sua área de cultivo é de aproximadamente 13 mil hectares e produção de frutos, cerca de 350 mil toneladas (Cenário Hortifruti Brasil 2018). Cujo um dos principais entraves na produção são as doenças.

Geralmente as hortaliças apresentam suscetibilidade a doenças, principalmente as transmitidas por sementes, sendo estas um dos principais meios de sobrevivência e dispersão de patógenos (Pereira *et al.* 2015). O pimentão também é uma hortaliça muito suscetível às doenças veiculadas por sementes, com destaque para a Antracnose, doença altamente destrutiva que afeta várias culturas, cujo agente causal é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) (Araújo *et al.* 2016). Outros fitopatógenos são encontrados em associação às sementes de pimentão, como os gêneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., e *Rhizopus* spp., descritos na literatura pelo potencial em deteriorar grãos e sementes e de produzir micotoxinas altamente tóxicas às pessoas, animais e plantas (Reverberi *et al.* 2010).

A sanidade das sementes pode ser afetada pela ação conjunta de fungos fitopatogênicos, que podem danificar as sementes e comprometer o desenvolvimento das culturas (Santos *et al.* 2016). Além disso, a ação desses fitopatógenos pode reduzir sua

qualidade fisiológica com impactos negativos na germinação e ainda prejudicar os resultados de trabalhos, realizados em condições laboratoriais (Cunha *et al.* 2017).

Um aspecto relevante, da qualidade sanitária, é a produção de mudas saudáveis, pois as sementes são suscetíveis ao ataque de fitopatógenos que provocam sua deterioração e causam ferimentos e anomalias nas plântulas (Piveta *et al.* 2010). Outro aspecto é o controle das doenças transmitidas por sementes, pela necessidade de reduzir e evitar sua transmissão a longas distâncias, para tanto, é possível obter tais resultados através do tratamento sanitário de sementes, com capacidade de reduzir e controlar os agentes causais das doenças sem provocar danos a seu potencial fisiológico (Braga *et al.* 2010; Flávio *et al.* 2014). Assim, o uso de métodos alternativos de controle como biológicos e físicos, além do químico, têm apresentado resultados significativos na eliminação ou redução do inóculo infectivo de fitopatógenos em sementes (Santos *et al.* 2016).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de pimentão, e o uso de métodos alternativos, como termoterapia, extratos vegetais, produtos químicos e biológicos, que promovam o controle de fitopatógenos nessas sementes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em Casa de Vegetação, do Núcleo de Biotecnologia Agrônoma da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, Campi São Luís (MA), para os ensaios *in vitro* e *in vivo*, respectivamente. Foram utilizadas sementes de pimentão da variedade comercial All Big.

Qualidade fisiológica: Para a qualidade fisiológica foi realizado o teste padrão de germinação, vigor e umidade, conforme as RAS (Brasil 2009). A avaliação foi realizada através da contagem de plântulas normais, plântulas anormais e infectadas, aos sete e aos quatorze dias após a sua instalação. Para obtenção do vigor das sementes foi adotado o teste da primeira contagem de germinação, realizado simultaneamente ao teste padrão de germinação, avaliado pelo percentual de plântulas normais no sétimo dia após a semeadura. Ao final do teste padrão de germinação, com os dados diários do número de plântulas normais, foi calculado o índice de velocidade de germinação de acordo com Maguire (1962). O grau de umidade das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105 °C, por 24 horas, utilizando-se duas sub-amostras, segundo as RAS (Brasil 2009).

Termoterapia: No ensaio com tratamento térmico, as sementes de pimentão foram desinfestadas e acondicionadas em sacos de poliamida (filó) e transferidas para o banho-maria. As combinações de tempo e temperatura adotadas para as sementes de pimentão tiveram como base a combinação já determinada para a cultura (Zambolim *et al.* 1997). Os tratamentos foram distribuídos da seguinte forma: 45° C/25 min., 45° C/30 min., 50° C/ 25 min., 50° C/30 min., 55° C/25 min. e 55° C/30 min. Sementes sem tratamento foram mantidas como testemunha. Depois dos tratamentos, as sementes foram plaqueadas em placas de Petri contendo meio de cultura BSA (Batata-Sacarose-Ágar) e mantida em câmara BOD, à temperatura de 25±2° C. Após sete dias foi realizada a avaliação, que consistiu da observação de colônias fúngicas surgidas após o tratamento das sementes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições e a unidade experimental constituída por cada placa, com 20 sementes.

Extratos vegetais: Na obtenção dos extratos aquosos, as folhas de nim (*Azadirachta indica* A. Juss), eucalipto (*Eucalyptus citriodora* L), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), foram submetidas ao processo de secagem, moagem e imersão em água destilada, por 24 horas, para extração dos compostos, em seguida foram filtrados em gaze, centrifugados por dois minutos a 1.800 rpm e, novamente, filtrados através de filtro adaptado em seringa, com membrana de celulose a 22 µm. Foram preparados extratos aquosos na concentração de 5 % (50g de extrato L⁻¹ de água destilada), onde as sementes, após desinfestação, foram imersas por um período de 10 minutos. Após o tratamento, as sementes foram plaqueadas, em placas de Petri, contendo BSA e incubadas a 22±2 °C, sob regime de iluminação de 12 horas de luz / 12 horas de escuro. A avaliação da incidência dos patógenos ocorreu após sete dias, examinando-se individualmente as sementes em microscópio estereoscópico para observação e identificação dos fitopatógenos. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições.

Produtos químicos e biológicos: Inicialmente as 700 sementes passaram por desinfestação, antes de serem submetidas aos tratamentos. No tratamento químico, submeteu-se as sementes de pimentão ao método convencional, de tratamento químico, com os produtos Thiofanato Metílico, Tebuconazole, Carbendazin e Azoxistrobina+Thiram nas dosagens recomendadas pelos fabricantes. Os fungicidas e as sementes foram colocados em sacos plásticos de 2,0 L, e agitados por alguns minutos até cobertura total das sementes pelos fungicidas. No tratamento utilizando produtos biológicos à base de *Trichoderma asperellum* (Quality®) e *Bacillus subtilis* (Rizos®), as sementes foram tratadas com os produtos de acordo com as recomendações do

fabricante. Após os tratamentos as sementes foram plaqueadas em meio BSA e mantidas em câmara BOD, à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. A avaliação constou da observação de colônias fúngicas com auxílio de microscópio estereoscópio, após sete dias do plaqueamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições. A testemunha constou das sementes imersas em água destilada.

Microbiolização com isolados de *Bacillus* spp.: Para o controle biológico utilizou-se os isolados: *Bacillus* spp. B41 (*Bacillus cereus*), B47 (*B. methylotrophicus*), B22 (*B. polymyxa*), B7' (*Bacillus* sp.) e B22' (*B. pentothenicus*). Os tratamentos foram realizados de acordo com a metodologia de Ludwig et al (2007), que consistiu na microbiolização das sementes com os isolados de *Bacillus*, previamente cultivados em meio BDA por 48 horas. Estas foram imersas em suspensão preparada com solução salina (NaCl 0,85 %) e colocadas sob agitação por 30 minutos. Após os tratamentos as sementes foram plaqueadas em placas de Petri, com meio BSA, e mantidas em câmara BOD, à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Foi avaliada a incidência de colônias fúngicas nas sementes, com auxílio de microscópio estereoscópico, após sete dias do plaqueamento. O delineamento foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições. A testemunha constou das sementes imersas em água destilada.

Manejo da antracnose: em casa de vegetação foram avaliados os tratamentos: termoterapia (45°/25 min.), extrato aquoso de manjerição a 5 %, microbiolização com isolados de *Bacillus methylotrophicus* - B47, produto biológico Quality®) (0,167 g. mL⁻¹); Tiofanato Metílico (0,7 g p.a/L). As sementes de pimentão, da variedade comercial All

Big, foram submetidas aos tratamentos antes do plantio e depois semeadas em vasos plásticos, contendo solo previamente autoclavado, mantendo-se, após o desbaste, duas plantas/vaso. Plantas com 30 dias de idade foram inoculadas através da pulverização da suspensão de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, com uma concentração de 10^6 conídios mL⁻¹, permanecendo em câmara úmida por 48 h. As avaliações da severidade foram realizadas em todas as folhas da planta aos 3, 8, 13, 18 e 23 dias após a inoculação por meio da escala de notas descrita por Pereira *et al.* (2011), adaptada por Araújo *et al.* (2016): nota 1: plantas sem sintomas; nota 2: 1-10 % de plantas com sintomas; nota 3: 11-25 % de plantas com sintomas; nota 4: 26-50 % das plantas com sintomas; nota 5: 51-75 % das plantas com sintomas; nota 6: mais de 75 % das plantas com sintomas e / ou morte de plantas. Os dados da severidade foram transformados em índice de doença (McKinney, 1923) e usados para calcular a área abaixo da curva de progressão da doença (AACPD), com a fórmula: $AACPD = \sum [(Y_i + Y_{i+1})/2] \cdot (T_{i+1} - T_i)$, onde $Y_i + Y_{i+1}$ são os valores de severidade observados entre as avaliações consecutivas e $T_{i+1} - T_i$, o intervalo de tempo entre as avaliações (Shaner e Finney 1977). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições, sendo a parcela constituída por duas plantas por vaso.

Análise estatística dos dados: Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias de cada tratamento comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para as análises estatísticas foi utilizado o software InfoStat/IS (Di Rienzo 2018). Os dados em percentagem foram transformados pela \sqrt{x} .

RESULTADOS

Qualidade fisiológica de sementes de pimentão

Os resultados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica das sementes de pimentão, variedade All Big, seguem descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de pimentão, através do teste de germinação, umidade e vigor. São Luís (MA), 2017.

Cultivar	%						IVG
	Germinação	PC	U	PN	PA	PI	
All Big	97	69	8,07	96	4,0	31,5	40,1

Primeira Contagem (PC), Umidade (U%), Plântulas normais (PN %), plântulas anormais (PA %), plântulas infectadas (PI %) e índice de velocidade de germinação (IVG).

Na avaliação das plântulas normais, na primeira contagem, obteve-se vigor médio com 69%, e aos 14 dias, vigor muito alto, 96% (Vieira et al. 2018).

Tratamento *in vitro* com extratos vegetais

O efeito dos tratamentos, com extratos vegetais, no controle dos fitopatógenos associados às sementes segue descrito na Tabela 2. Na incidência dos fungos do gênero *Aspergillus* sp. somente o extrato aquoso de manjerição apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) da testemunha. Para as espécies de *A. niger*, *A. fumigatus* e *A. flavus*, quase todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha, exceto o extrato de canela para *A. fumigatus*.

Em relação à incidência de *Curvularia* sp, a maioria dos tratamentos diferiram da testemunha, com exceção, apenas, do extrato de manjerição. Enquanto, para o fungo *Rhizopus stolonifer* todos os extratos diferiram da testemunha, mas não entre si. Para o gênero *Fusarium* sp. não houve diferença significativa entre os tratamentos e a

testemunha. Porém para gênero *Phoma* sp. somente o extrato de canela diferiu significativamente da testemunha, sem diferir dos demais tratamentos.

Observa-se que a maioria dos extratos aquosos conseguiram controlar acima de 50% todos os fungos incidentes nas sementes (Tabela 2). Ressalta-se que o extrato de nim, não controlou a incidência de *Fusarium* sp. e que apesar da alta incidência do fitopatógeno *R. stolonifer*, esse foi controlado em 100% por todos os extratos aquosos. O tratamento com extrato de canela controlou de 72% em até 100% todos os fungos identificados.

Tabela 2. Controle de fitopatógenos em sementes de pimentão All Big através de tratamento in vitro com extratos vegetais. São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha. NC = Não Controlou. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey($p < 0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} .

	Incidência (médio nº Patógenos)	*Test.	Tratamentos			
			Eucalipto	Nim	Canela	Manjeriçã
<i>Aspergillus</i> sp.	INC	2.10 a	1.60 ab	1.10 ab	0.40 ab	0.30 b
	Ctr (%)		32	60	72	88
<i>A. flavus</i>	INC	2.20 a	0.20 b	0.20 b	0.40 b	0.00 b
	Ctr (%)		96.5	96.6	82.7	100
<i>A. fumigatus</i>	INC	1.90 a	0.20 b	0.00 b	0.80 ab	0.20 b
	Ctr (%)		91.3	100	73.9	91.3
<i>A. niger</i>	INC	2.60 a	1.10 b	0.40 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		67.6	85.3	100	100
<i>Curvularia</i> sp.	INC	1.40 a	0.20 b	0.00 b	0.00 b	0.70 ab
	Ctr (%)		91.6	100	100	58.3
<i>Fusarium</i> sp.	INC	0.60 ab	0.00 b	1.00 a	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	NC	100	100
<i>Rhizopus Stolonifer</i>	INC	2.30 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	100	100
<i>Phoma</i> sp.	INC	1.50 a	0.40 ab	0.80 ab	0.00 b	0.30 ab
	Ctr (%)		87.5	62.5	100	91.2

Tratamento *in vitro* com termoterapia

A termoterapia, em sementes de pimentão, utilizada para reduzir agentes fitopatogênicos mostrou resultados positivos. Em que, todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha quanto à incidência dos patógenos identificados, com até 100% de controle, sobre a maioria deles, sem diferenças entre si (Tabela 3).

Tabela 3. Controle de fitopatógenos em sementes de pimentão All Big, através da termoterapia. São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} .

Incidência (médio nº Patógenos)	Test.	Tratamentos						
		45 °C		50 °C		55 °C		
		25 min	30 min	25 min	30 min	25 min	30 min	
<i>A. flavus</i>	INC	1.90 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.50 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	100	83.3	100	100
<i>A. fumigatus</i>	INC	1.80 a	0.00 b	0.00 b	0.40 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	88.9	100	100	100
<i>A. niger</i>	INC	2.90 a	0.00 b	0.00 b	0.60 b	0.20 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	86.6	98	100	100
<i>Fusarium</i> sp.	INC	1.20 a	0.00 b					
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	100
<i>Curvularia</i> sp.	INC	2.10 a	0.00 b	0.20 b				
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	92
<i>Rhizopus Stolonifer</i>	INC	3.10 a	0.00 b					
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	100

Tratamento *in vitro* com produtos químico e biológico (comercial).

No ensaio *in vitro* com produtos químicos e biológicos todos os tratamentos diferiram significativamente ($p < 0,05$) da testemunha, com controle de até 100% para a maioria dos patógenos incidentes nas sementes, sem diferenças entre si, exceto o produto biológico à base de *Bacillus subtilis* (Rizos[®]), para o fungo *A. niger*, que diferiu da testemunha e dos demais tratamentos, com controle acima de 70% (Tabela 4).

Tabela 4. Controle de fitopatógenos em sementes de pimentão All Big, através do tratamento com produtos químicos e biológicos, São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} .

Incidência (médio nº Patógenos)	Test.	Tratamentos						
		Carbendazin	Thiofanato metílico	Azoxistrobin +Thiran	Tebuconazole	Quality®	Rizos	
<i>Aspergillus</i> sp.	INC	1.20 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	100
<i>A. flavus</i>	INC	1.90 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	100
<i>A. fumigatus</i>	INC	1.70 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.50 b
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	75
<i>A. niger</i>	INC	2.20 a	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.90 b
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	73.1
<i>Curvularia</i> sp.	INC	1.60 a	0.20 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.20 b
	Ctr (%)		94	100	100	100	100	94
<i>Fusarium</i> sp.	INC	0.90 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	100	100	100	100
<i>Rhizopus</i> <i>Stolonifer</i>	INC	3.60 a	0.00 b	0.00 b	0.70 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	80	100	100	100

Os produtos utilizados se mostraram eficientes na redução dos patógenos presentes nas sementes de pimentão, sobressaindo-se os fungicidas Thiofanato Metílico e Tebuconazole e o produto biológico à base de *Trichoderma asperellum* (Quality®) ao controlarem em 100% todos os fitopatógenos identificados.

Tratamento *in vitro* com controle biológico

No ensaio *in vitro*, com controle biológico, cujas sementes foram tratadas com isolados de *Bacillus spp.*, houve a predominância dos gêneros *Aspergillus sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* e *Rhizopus sp.* Os isolados de *Bacillus spp.*, microbiolizados nas sementes de pimentão controlaram todos os patógenos identificados, com variação de 75% à 100% de controle (Tabela 5). Para a maioria dos fungos identificados, todos os

isolados de *Bacillus* diferiram significativamente da testemunha, sem diferenças entre si, com exceção do fungo *Fusarium* sp. que os tratamentos não diferiram da testemunha e nem entre si.

Tabela 5. Controle de fitopatógenos associados às sementes de pimentão All Big, microbiolizadas com isolados de *Bacillus* sp. São Luís (MA), 2017. Onde: Test. = testemunha; B7' = *Bacillus* sp.; B22 = *B. polymyxa*; B22' = *B. pentothenicus*; B41 = *B. cereus* e B47 = *B. methylotrophicus*. Valores seguidos da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Dados transformados pela \sqrt{x} .

Incidência (médio nº Patógenos)		Tratamentos					
		Test.	B 47	B 22	B 22'	B 7'	B 41
<i>Aspergillus</i> sp.	INC	1.30 a	0.00 b				
	Ctr (%)		100	100	100	100	100
<i>A. flavus</i>	INC	2.40 a	0.00 b	0.30 b	0.00 b	0.70 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	93.1	100	86.2	100
<i>A. fumigatus</i>	INC	2.20 a	0.00 b	0.00 b	0.40 b	0.00 b	0.00 b
	Ctr (%)		100	100	94.3	100	100
<i>A. niger</i>	INC	2.80 a	0.00 b	0.40 b	0.60 b	0.60 b	0.40 b
	Ctr (%)		100	95.1	92.7	92.7	95.1
<i>Curvularia</i> sp.	INC	2.10 a	0.00 b	0.30 b	0.00 b	0.00 b	0.20 b
	Ctr (%)		100	90.9	100	100	95
<i>Fusarium</i> sp.	INC	0.90 a	0.00 a	0.30 a	0.20 a	0.00 a	0.00 a
	Ctr (%)		100	75	88.9	100	100
<i>Rhizopus Stolonifer</i>	INC	3.00 a	0.00 b				
	Ctr (%)		100	100	100	100	100

Em relação ao efeito dos diferentes isolados de *Bacillus* no antagonismo microbiano não houve diferença significativa entre os isolados testados, porém foram significativamente eficientes na redução das colônias fúngicas. É importante destacar que a espécie de *B. methylotrophicus* é mencionada na literatura pelo grande potencial de biocontrole, por apresentar maior efeito antagônico sobre fitopatógenos (Velasco *et al.* 2016; Paz *et al.* 2018).

Manejo da antracnose em pimentão

Na Figura 1, segue a curva de progresso da antracnose do pimentão, cultivar All Big, com as diferenças nos valores da severidade observados. As avaliações realizadas aos 3, 8, 13 e 18 dias após a inoculação do patógeno (DAI), não apresentaram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos. Porém, aos 23 dias após a inoculação, obteve-se diferenças significativas entre os tratamentos. O tratamento testemunha T6 (imersão apenas com água destilada) apresentou severidade média de 4,35%, os tratamentos à base de extrato vegetal: T2 (extrato aquoso de manjeriço a 5%); de agentes biológicos: T3 (isolados de *Bacillus methylotrophicus* - B47) e T4 (produto comercial Quality® à base de *Trichoderma asperellum*) apresentaram os mesmos resultados, esses foram os menores valores de severidade, diferindo-se estatisticamente da testemunha ($p < 0,008$) e estão na Figura 2.

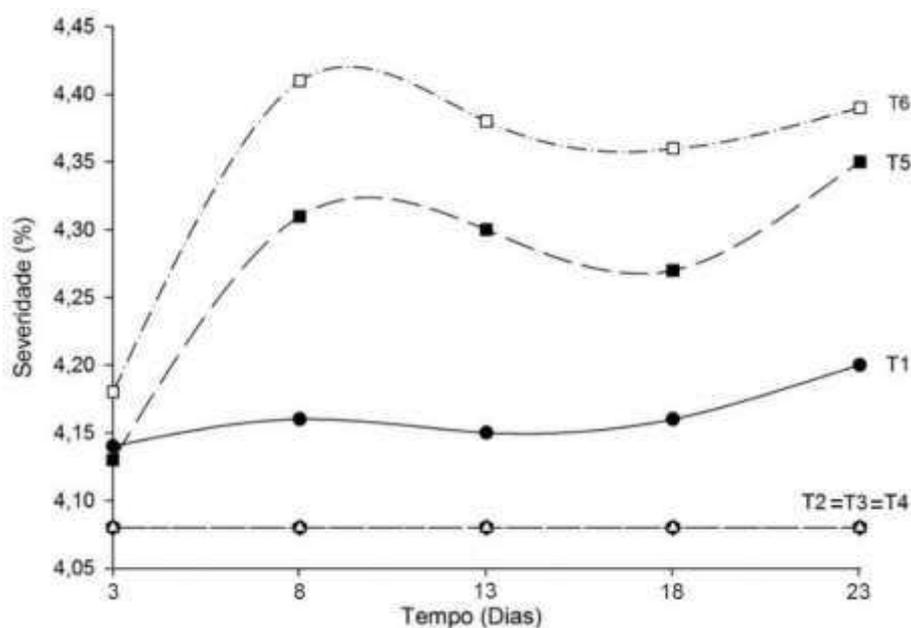


Figura 1. Severidade da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, na cultivar de pimentão All Big, em função dos tratamentos de sementes nos tempos de avaliações, São Luís (MA), 2018. Onde: CV (%) = 3,33; T1 = Termoterapia (45 °C 25 min.); T2 = Extrato de manjeriço a 5%; T3 = *Bacillus*

methylotrophicus, B47; T4 = Quality® (*Trichoderma asperellum*); T5 = Tiofanato Metílico; T6 = Testemunha. Valores transformados pela \sqrt{x} . Valores transformados pela \sqrt{x} .

Os tratamentos Termoterapia T1 (45 °C 25 min.) e Tiofanato Metílico T5 apresentaram valores mais elevados de severidade da antracnose nas plantas com 4,16% e 4,35%, respectivamente. Estes valores foram equivalentes à testemunha e não diferiram dos demais tratamentos (Figura 2).

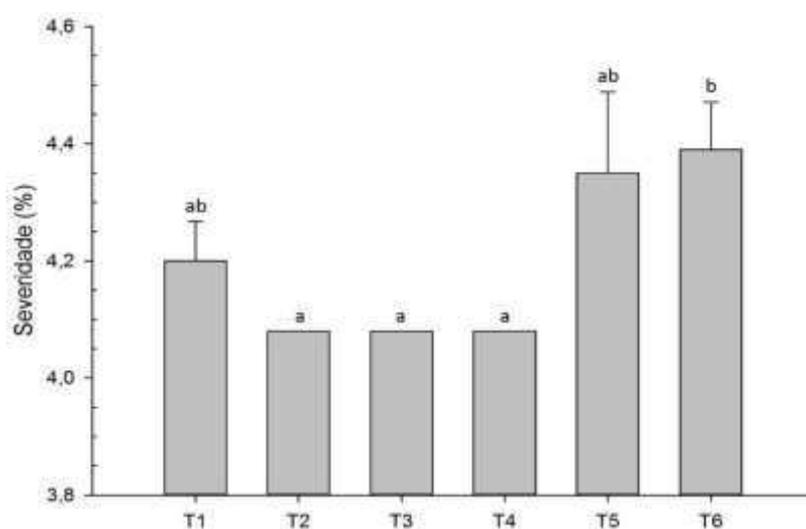


Figura 2. Efeito dos tratamentos sobre a antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* na cultivar de pimentão All Big, aos 23 DAI., São Luís (MA), 2018. Onde: CV (%): 3,77; T1 = Termoterapia (45 °C 25 min.); T2 = Extrato de Manjeriço (5%); T3 = *Bacillus methylotrophicus*, B47; T4 = Quality; T5 = Tiofanato Metílico; T6 = Testemunha. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Valores transformados pela \sqrt{x} .

A análise de variância dos dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) mostrou não haver diferenças significativas no efeito dos tratamentos sobre os valores da AACPD. Os tratamentos que apresentam os menores percentuais de área foliar afetada pela doença foram T2 (manjeriço a 5%); T3 (isolados de B47, *B. methylotrophicus*) e T4 (produto comercial Quality à base de *Trichoderma asperellum*),

em torno de 51,00, respectivamente. Já os tratamentos T1 (45°C/25 min.) e T5, obtiveram valores de 52,01 e 53,37 de AACDP, respectivamente.

DISCUSSÃO

Qualidade fisiológica

A germinação das sementes da variedade de pimentão All Big apresentou 97%. Resultado semelhante foi encontrado por Vieira *et al.* (2018), que também observaram germinação acima de 90%, para essa variedade. Para a avaliação das plântulas normais, na primeira contagem e aos quatorze dias, nesta pesquisa, o vigor foi médio (69%) e muito alto (96%), respectivamente. Corroborando com esses resultados Torres e Minami (2000), em ensaio com quatro lotes da cultivar All Big, obtiveram na primeira contagem vigor de 41% a 71% e aos quatorze dias, 74% a 89%, de plântulas normais. Divergindo desses resultados, Vieira *et al.* (2018) obtiveram vigor classificado como muito baixo, para essa variedade, que até aos quatorze dias alcançaram apenas 6,5% de plântulas normais.

Os resultados desta pesquisa apontaram infestação de 32% nas sementes, entretanto, não houve interferência na qualidade fisiológica. Assim, ressalta-se que, a presença desses patógenos nas sementes nem sempre implica em perda da qualidade fisiológica (Botelho *et al.* 2008), como a associação dos gêneros *Aspergillus* spp. e *Rhizopus* spp., em sementes de alface e repolho, que não influenciou na germinação (Paiva *et al.* 2016) e ainda *Aspergillus niger* (Rapper & Fennel), *Aspergillus* sp. (Micheli.) e *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) que não interferiram na porcentagem de plântulas normais, dada às estratégias de defesa das

plântulas durante a germinação (Ferreira *et al.* 2017). Mas, a presença destes patógenos pode ser garantia de sobrevivência e disseminação (Botelho *et al.* 2008).

A associação de patógenos em sementes pode desencadear uma série de complicações até provocar danos intoleráveis, dado a seu potencial de transmitir diversos patógenos como fungos, bactérias, vírus e nematoides. O que demonstra a relevância das sementes como meio de sobrevivência e dispersão de fitopatógenos (Pereira *et al.* 2015).

Os resultados encontrados para as sementes de pimentão, da variedade All Big, avaliadas nesta pesquisa, demonstraram que o uso dessas sementes pode garantir bom desempenho de um estande, tendo em vista, o alto vigor obtido.

Tratamento *in vitro* com extratos vegetais

O fato do extrato de nim não ter controlado o fungo *Fusarium* pode ser devido à presença de subprodutos, na planta de nim, que estimularam o crescimento do fungo (Govindachari *et al.* 1998). Em contrapartida, Brito e Nascimento (2015) verificaram a eficácia do efeito fitotóxico dos extratos de nim e gengibre, em baixas concentrações (a partir de 25%), sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) na inibição do crescimento micelial e da esporulação, inferindo como alternativa viável no controle desse fitopatógeno.

Estudos descritos na literatura confirmam os resultados encontrados neste trabalho, quanto à capacidade antifúngica dos extratos aquosos. Como exemplo o trabalho de Camatti-Sartori *et al.* (2011), com extrato de manjerição que, na concentração de 50%, inibiu em mais de 40% os fitopatógenos do gênero *Fusarium* sp. O manjerição tem sido mencionado na literatura por sua atividade antimicrobiana (Wuaden *et al.* 2018), que está associada principalmente aos compostos, Eugenol e o Linalol, presentes nos óleos

essenciais dessa planta, que atuam na inibição de fungos e bactérias (Aquino et al. 2010; Koroch et al. 2017). A pesquisa de Silva *et al.* (2005) que ao tratarem sementes de soja [(*Glycine max* (L.) Merrill)] com extrato aquoso de manjeriço, lavena (*Lavula officinalis*), capim-limão (*Cytrus citratus*) e eucalipto confirmaram a eficiência desses extratos aquosos no controle de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp.

Por outro lado, Flávio *et al.* (2014) constataram a eficiência do extrato aquoso de canela e do óleo essencial de manjeriço em diferentes concentrações, na redução da incidência de fitopatógenos em sementes de sorgo, principalmente sobre o fungo *Curvularia*, no entanto, foram fitotóxicos ao vigor das sementes.

No presente estudo, os extratos aquosos promoveram a redução de fitopatógenos nas sementes, possivelmente pela presença de compostos biologicamente ativos nesses extratos, o que reforça o potencial de utilização desses extratos aquosos como agentes antifúngicos naturais em tratamentos de sementes.

Tratamento *in vitro* com termoterapia

Os tratamentos térmicos reduziram significativamente a incidência de todos os fitopatógenos identificados, principalmente nas temperaturas de 45 °C a 55 °C, durante os tempos de 25 minutos e 30 minutos. Em estudo semelhante, Costa et al. (2011), ao tratarem sementes de tomate cereja com água aquecida, a 50 °C por 25 minutos e 30 minutos, constataram que, a exposição por 30 minutos, foi mais eficiente na redução dos fitopatógenos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp, e que a qualidade fisiológica das sementes não foi afetada.

O tratamento térmico em sementes de milho, a 50 °C por 10 min, também foi eficiente no controle de *Aspergillus* sp. e *Rhizopus stolonifer* com maior expressão no

controle aos 52 °C, e maior sensibilidade dos patógenos destes gêneros ao tratamento (Rahman et al. 2008). Santos et al. (2016) verificaram, em sementes de soja tratadas a 40 °C, que o aumento do tempo de exposição via calor úmido reduziu a incidência de fungos fitopatogênicos e, com tempo acima de 50 min., obtiveram sanidade superior a 95%, no entanto, o aumento da temperatura reduziu o potencial de germinação das sementes.

Nesta pesquisa o aumento da temperatura, até 55 °C e 30 minutos, manteve a eficiência do tratamento na redução dos fitopatógenos. O calor úmido a 55 °C por 30 min, também erradicou os fungos *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp., associados a sementes de tomate, sendo letal às sementes a partir 60 °C por 30 min. ou 60 min. (Braga et al. 2010).

Em tratamentos de sementes com água quente, independentemente da espécie, a temperatura deve ser restrita a uma faixa de 45 °C a 60 °C por um período máximo de 60 minutos. No entanto, a sensibilidade das sementes pode variar de espécie para espécie, de cultivar para cultivar e, muitas vezes, de lote para lote (Grondeau e Samson 1994; Braga et al. 2010), o que indica a necessidade de realização de teste de germinação, antes da aplicação dos tratamentos nas sementes para o plantio. Portanto, em muitos casos obtêm-se resultados divergentes nas pesquisas, por se trabalhar com organismos vivos, sujeitos à ação de fatores intrínsecos e extrínsecos para expressar o efeito causado. Assim, a termoterapia enquanto método físico, embora apresente baixa tenacidade, age pontualmente sobre as sementes, o que resultou no controle eficiente dos fitopatógenos presentes nas sementes de pimentão.

Tratamento *in vitro* com produtos químico e biológico (comercial)

Os fungos identificados, pertencentes aos gêneros *Aspergillus* sp. *Curvulária* sp. *Fusarium* e *Rhizopus* sp., tiveram 100% de controle pelos fungicidas Tiofanato Metílico e Tebuconazole. Resultados semelhantes foram descritos por Fischer *et al.* (2012) que descreveram os efeitos da avaliação de dez fungicidas na redução do crescimento micelial dos agentes causais da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*) e da pinta preta (*Guignardia psidii*) da goiaba, onde os fungicidas Carbendazim e Tiofanato Metílico promoveram inibição em mais de 60% do crescimento de *C. gloeosporioides*, no entanto, para os isolados de *C. acutatum* os fungicidas Mancozebe, Tiofanato Metílico e Captan não foram eficientes.

O tratamento com Carbendazin controlou em 94% os fitopatógenos e não interferiu na germinação das sementes. Resultados divergentes foram encontrados por Fantinel *et al.* (2015), em sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*) verificaram que, o tratamento com Carbendazin, embora tenha erradicado os fungos *Aspergillus flavus* e *A. niger*, *Phomopsis* sp. e *Alternaria* sp., foi fitotóxico à germinação das sementes.

Em relação ao produto à base de *Trichoderma asperellum*, este erradicou todos os fungos identificados. Corroborando com esses resultados, Lazarotto *et al.* (2013) observaram que sementes de cedro (*Cedrella fissilis*) tratadas com produto químico e biológico à base de *Trichoderma* sp. e os dois combinados (biológico + químico), erradicaram o patógeno (*Rhizoctonia* sp.) que estava infectando naturalmente as sementes. Oliveira *et al.* (2016) verificaram a atividade fungitóxica dos antagonistas *Trichoderma* sp. e *B. subtilis*, *in vitro* no crescimento micelial de *Colletotrichum musae* com reduções de 84,0% e 74,0% respectivamente, e *in vivo* os isolados de *Trichoderma* sp. apresentaram maior eficiência com 56% de inibição da antracnose da banana.

Os fungos fitopatogênicos têm suas estruturas de reprodução, os esporos, com grande potencial de infecção nas plantas e fácil disseminação. Logo, os resultados deste trabalho apontam que a eficiência do produto está relacionada com a capacidade de inibir o agente patogênico.

Tratamento *in vitro* com controle biológico

Todas as sementes microbiolizadas com isolados de *Bacillus* tiveram redução em até 100%, dos fungos identificados. Com relação ao potencial, de redução de fitopatógenos, dos isolados de *Bacillus*, isolados de *Bacillus pumilus* e *Bacillus licheniformis* microbiolizados em sementes de soja, também reduziram os fitopatógenos em até 99,83% e 99,22%, respectivamente (Bezerra *et al.* 2013). E em vinte isolados de *Bacillus* spp., avaliados contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* LFR-3, em plantas de repolho 'Midori', o isolado de *B. cereus* reduziu em 78% e 71%, os sintomas da doença (Assis *et al.* 1997).

Isolados de *Bacillus* têm sido estudados por vários autores como agente biológico em potencial, como Nascimento (2009) que, ao trabalhar com sementes de arroz, observou que os isolados B6 (*Bacillus* sp.), B16 (*B. macerans*), B22, B33 (*B. polymyxa*), B22' (*B. pentothenicus*), B25, B31, B35 (*B. pumilus*), B32 (*B. stearothermophilus*) e B41 (*B. cereus*), controlaram o patógeno *Aspergillus niger*.

Na literatura encontram-se diversos trabalhos que confirmam antagonismo a fitopatógenos do gênero *Bacillus*. Como o observado por Vieira Júnior (2005) que, em bioensaio *in vitro*, verificou que o *B. cereus* (UFV-75) foi capaz de produzir sideróforos, compostos voláteis, bacteriocinas e enzima quitinase. Oliveira *et al.* (2016), atestaram o

potencial de inibição *in vivo* dos antagonistas *Levedura* IA8 (L), *Trichoderma* sp. (TR) e *B. subtilis* (Bs) no controle da antracnose (*Colletotrichum musae*) da banana.

Nesta pesquisa, *Bacillus methylophilus* erradicou todos os fitopatógenos, inclusive o fungo *Fusarium* sp. Em sementes de tomate da variedade Santa Cruz, a microbiolização de *B. methylophilus*, promoveu a indução de resistência sistêmica nas plantas à murcha de *fusarium* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Schlecht Snyder & Hansen) pela ativação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase, com obtenção de 75% de redução da doença (Campos Neto *et al.* 2018). Isolados de *B. methylophilus* (Iso 31) também apresentaram ação fungistática, com alta eficiência, no crescimento micelial de *Corynespora cassicola*, agente causal da mancha-alvo do mamoeiro (Paz *et al.* 2018).

Isolados de *Bacillus* apresentam grande potencial de biocontrole, dada a capacidade de produzir uma gama de metabolitos antifúngicos como as surfactinas, iturinas e furgicinas, que são famílias de lipopeptídeos, com capacidade antifúngica e de inibição de crescimento de uma variedade de fitopatógenos (Lanna Filho 2010). Logo, os isolados de *Bacillus* podem ter agido de diferentes maneiras ou mecanismos de ação para inibir os patógenos identificados, seja por competição, pela produção de antibióticos ou pela liberação de compostos voláteis, de forma isolada ou pela interação destes mecanismos.

Manejo da antracnose em pimentão

Os tratamentos à base de *Bacillus methylophilus* (B47), Quality® (*Trichoderma asperellum*) e de extrato aquoso de manjeriço reduziram a severidade da antracnose do pimentão e demonstraram o potencial de inibição desses tratamentos no desenvolvimento inicial de fitopatógenos, com efeito significativo em relação aos demais

tratamentos. Campos Neto *et al.* (2018) observaram que a microbiolização de *B. methylotrophicus* em sementes de tomate, variedade Santa Cruz, reduziu em quase 80% a murcha de fusarium e ainda ativou as enzimas peroxidase e polifenoxidase que induziram a resistência sistêmica das plantas à doença.

Oliveira *et al.* (2016) observaram que os agentes de biocontrole *Trichoderma* sp. e *Bacillus subtilis* foram eficazes no controle da antracnose (*Colletotrichum musae*) da banana, *in vivo*, confirmando esse potencial de inibição, mas, obtiveram melhor eficiência com o isolado de *Trichoderma* sp. por inibir cerca de 56% da doença.

Vieira Júnior (2005) ao avaliar 500 isolados de procariotas residentes do filoplano do feijoeiro *in vitro*, constatou que o isolado UFV-75 (*Bacillus cereus*) foi capaz de inibir, a germinação de conídios e crescimento micelial de todos os patógenos testados. Kupper *et al.* (2003) ao estudar 64 isolados de *Bacillus subtilis*, 4 isolados de *Bacillus* spp., e um isolado de *B. thuringiensis*, quanto à sua atividade antagônica contra *Colletotrichum acutatum* Simmonds, observaram que todos apresentaram efeito inibitório ao fungo avaliado. Isolados de *Bacillus subtilis* em tratamento de sementes de feijão-caupi, para controle de *Rhizoctonia solani*, agente etiológico da Mela, *in vivo*, retardam a incidência da doença e reduzem o percentual de desfolha (Schurt *et al.* 2017).

Resultados semelhantes, ao desta pesquisa, com produtos comerciais à base de *Trichoderma* ssp. foram descritos por Fantinel *et al.* (2018) que observaram o controle *in vitro* de *Colletotrichum siamense*, principalmente por *Trichoderma koningiopsis*, e apontaram esta espécie, com potencial, para estudos como agente de biocontrole da antracnose da goiaba-serrana. Em estudo sobre o controle biológico da requeima do tomateiro, causada por *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, com os isolados de *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma longibrachiatum*, os resultados até 58 dias após

o transplante, apresentaram ação protetora desses antagonistas contra a requeima (Souza *et al.* 2014). A eficiência dessas espécies de *Trichoderma* no controle de doenças, pode estar relacionada com características peculiares das espécies, como a capacidade de driblar as vias de defesas do patógeno, a competitividade com a biota do solo e a resistência aos fatores abióticos (Bae e Knudsen 2005).

Neste estudo, a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos. A não significância do efeito dos tratamentos sobre a AACDP, pode estar associada ao fato, dos tratamentos não apresentarem diferenças significativas entre as médias das avaliações aos 3, 8, 13 e 18 dias após a inoculação. A variável AACDP é recomendada por alguns autores por representar a epidemia total, pois ela considera as perturbações que a cultura está sujeita em todos os estádios de desenvolvimento (Bergamin Filho e Amorim 1996). Entretanto, por ser uma variável integral, obtida somente após a realização de todas as avaliações no final do ciclo, não é possível obter respostas sobre os danos no transcorrer da safra, o que pode sub ou superestimar os resultados (Hikishima *et al.* 2010).

Estes resultados permitem inferir sobre a necessidade da avaliação de métodos e técnicas de tratamentos de sementes, bem como, associação de métodos com aplicação em pré e pós-colheita, que viabilizem o cultivo de pimentão com medidas eficientes de controle da antracnose, como alternativas não poluentes e atóxicos, sem efeito residual.

CONCLUSÕES

Os métodos alterativos à base de extratos de manjeriço e canela, do uso da termoterapia e a adoção dos agentes biológicos de controle à base de *Bacillus methylotrophicus* e *Trichoderma asperellum* apresentaram maior ação fungistática e

fungitóxica e controlaram os fitopatógenos, em sementes de pimentão, dado ao alto percentual de redução e erradicação da maioria dos fungos identificados, em detrimento ao uso de produtos químicos, são de fácil preparo e de baixo custo, tornam-se uma alternativa viável, sustentável e menos onerosa aos pequenos produtores. Os resultados obtidos são uma alternativa importante, com potencial para o tratamento de sementes de pimentão e, um possível suporte ao uso futuro em programas de Manejo Integrado de Doenças.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo recurso destinado ao projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos, à minha orientadora e ao Programa de Pós-graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

REFERÊNCIAS

- Aquino, L.C.L.; Santos, G.G.; Trindade, R.C.; Alves, J.A.B.; Santos, P.O.; Alves, P.B.; et al. 2010. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjerição frente a bactérias de carnes bovinas. *Alimentos e Nutrição Araraquara* 21: 529-535.
- Araújo, N.A.F.; Vieira, J.M.; Moura, M.R.; Pessoa, W.R.L.S.; Barguil, B.M. 2016. Pathogenicity and aggressiveness of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates in ornamental pepper. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 46: 321-326.
- Assis S.M.P.; Mariano R.L.R.; Michereff S.J.; Coelho R.S.B. 1997. Survival and redistribution of *Bacillus* spp., potential biocontrol agents of black rot, on kale

- phylloplane. In: Wenhua T.; Cook R.J.; Rovira A. (Ed.). *Advances in Biological control of Plant Diseases*. China Agricultural University Press, Beijing, China, p.374-379.
- Bae, Y.S.; Knudsen, G.R. 2005. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. *Biological Control* 32: 236-242.
- Bergamin Filho A, Amorim L. 1996. *Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico*. Agronômica Ceres, São Paulo, 299p.
- Bezerra, G.A.; Macedo, D.A.; Nascimento, I.O.; Sousa, T.P.; Costa, N.B.; Sousa, L.F.R.A. 2013. Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa RR. *Agroecossistemas* 5: 68-73.
- Botelho, L.S.; Moraes, H.D.; Menten, J.O.M. 2008. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas. *Summa Phytopathologica* 34: 343-348.
- Braga, M.P.; Olinda, R.A.; Homma, S.K; Dias, C.T. 2010. Relações entre tratamento térmico, germinação, vigor e sanidade de sementes de tomate. *Revista Brasileira de Sementes* 32: 101-110.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. 2009. *Regras para análise de sementes*. SNDA/DNVD/CLAV, Brasília, 365p.
- Brito, N.M.; Nascimento, L.C. 2015. Potencial fungitóxico de extratos vegetais sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) Meyer *in vitro*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 17: 230-238.
- Camatti-Sartori, V.; Magrini, F.E.; Crippa, L.B.; Marchett, C.; Venturin, L.; Silva-Ribeiro, R.T. 2011. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. *Revista Brasileira de Agroecologia* 6: 117- 122.

- Campos Neto, J.R.M. Chaves, R.R. Sardinha, D.H.S. Melo, L.G.L. Rodrigues, A.A.C. 2018. Bacterial Formulations in Induction of Resistance and Growth Promotion of Tomato Plants. *Journal of Agricultural Science* 10: 493-503.
- Cenário Hortifruti Brasil. 2018. Disponível em: <<https://abrafrutas.org/wp-content/uploads/2019/09/Relatorio-Hortifruti.pdf>>. Acesso em: set. 2019.
- Costa, I.J.S.; Soares, E.P.S.; Sales, N.L.P.; Azevedo, D.M.Q.; Rocha, A.P.; Aquino, C.F. 2011. Tratamento de sementes de tomate cereja visando sanidade germinação através da termoterapia. *Cadernos de Agroecologia*, 6.
- Cunha, R.P.; Carvalho, I.L.; Olsen, D.; Vieira, J.F.; Soares, V.N.; Tunes, L.M. 2017. Termoterapia no controle de patógenos associados às sementes de abóbora. *Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária* 11: 53-57.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. InfoStat versión 2018. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (<http://www.infostat.com.ar>). Acesso em: 10/12/2018.
- Fantinel, V. S.; Muniz, M. F. B.; Poletto, T.; Dutra, A. F.; Krahn, J. T.; Favaretto, R. F.; et al. 2018. Biocontrole in vitro de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Ciência Agrícola* 16: 43-50.
- Fantinel, V.S.; Oliveira, L.M.; Casa, R.T.; Rocha, E.C.; Schneider, P.F.; D.V. 2015. Tratamentos de sementes de goiaba-serrana (*Acca sellowiana*): efeito na incidência de fungos e na germinação. *Revista Brasileira de Biociências* 13: 84-89.
- Ferreira, D.S.; Pires, L.M.; Oliveira, T.A.S.; Peixoto, N.; Carvalho, D.D.C. 2017. Ocorrência de fungos em sementes de feijão ‘red mexican’ e seu efeito na germinação. *Scientia Agraria Paranaensis* 16: 542-545.

Fischer, I.H.; Silva, B.L.; Soares, A.R.; Arruda, M.C.; Parisi M.C.M.; Amorim, L. 2012. Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba. *Semina: Ciências Agrárias* 33: 2753-2766.

Flávio, N.S.D.S.; Sales, N.L.P.; Aquino, C.F.; Soares, E.P.S.; Aquino, L.F.S.; Catão, C.R.M. 2014. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. *Semina. Ciências Agrárias* 35: 7-20.

Govindachari, T.R.; Suresh, G.; Gopalakrishnan, G.; Banumathy, B.; Masilamani, S. 1998. Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. *Phytoparasitica* 26: 1-8.

Grondeau, C.; Samson, R.; Sands, D.C. 1994. A review of thermotherapy to free plant materials from pathogens, especially seeds from bacteria. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13: 57-75.

Hikishima, M.; Canteri, M. G.; Godoy, C. V.; Koga, L. J.; Silva, A. J. 2010. Quantificação de danos e relações entre severidade, medidas de refletância e produtividade no patossistema ferrugem asiática da soja. *Tropical Plant Pathology* 35: 096-103.

Koroch, A.R.; Simon, J. E.; Juliani, H.R. 2017. Essential oil composition of purple basil, their reverted green varieties (*Ocimum basilicum*) and their associated biological activity. *Industrial Crops and Products* 107: 526-530.

Kupper, K.C.; Gimenes-Fernandes, N.; Goes, A. 2003. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. *Fitopatologia Brasileira* 28: 251-257.

Lanna Filho, R.; Ferro, H.M.; Pinho, R.S.C. 2010. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. *Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas*, 4: 12-20.

- Lazarotto, M.; Muniz, M.F.B.; Beltrame, R.; Santos, A.F.; Müller, J.; Araújo, M.M. 2013. Tratamentos biológico e químico em sementes de *Cedrela fissilis* para controle de *Rhizoctonia* sp. *Cerne* 19: 169-175.
- Ludwig, J.; Moura, A.B. 2007. Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. *Fitopatologia Brasileira* 32: 381-386.
- Mckinney, H.H. 1923. Influência da temperatura e umidade do solo na infecção de plântulas de trigo por *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research* 26: 195-218.
- Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2: 176-177.
- Monteiro Neto, J.L.L.; Araújo, W.F.; Vilarinho, L.B.O.; Silva, E.S.; Araújo, W.B.L.; Sakazaki, R.T. 2016. Produção de mudas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) em diferentes ambientes e substratos. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 11: 289-297.
- Nascimento, I.O. 2009. *Isolamento, identificação e seleção de Bacillus spp. para o biocontrole de fitopatógenos do arroz*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, Maranhão, 109p.
- Oliveira, E.S.; Viana, F.M.P.; Martins, M.V.V. 2016. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. *Summa Phytopathologica* 42: 340-350.
- Paiva, C.T.C.; Silva, J. B.; Dapont, E.C.; Alves, C.Z.; Carvalho, M.A.C. 2016. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. *Revista de Ciências Agroambientais* 14: 53-59.

- Paz, D.S.; Araujo, J.R. G.; Rodrigues, A.A.C. Silva, E.K.C.; Diniz, N.B. 2018. Reação de genótipos de mamoeiro a mancha-alvo e atividade de extratos vegetais e *Bacillus* spp.sobre *Corynespora cassiicola*. *Revista Brasileira de Fruticultura* 40: e-927.
- Pereira, M.J.Z.; Massola Junior, N.S.; Sussel, A.A.B.; Sala, F.C.; Costa, C.P.; Boiteux, L.S. 2011. Reação de acessos de *Capsicum* e de progênies de cruzamentos interespecíficos a isolados de *Colletotrichum acutatum*. *Horticultura Brasileira* 29: 569-576.
- Pereira, R.B.; Silva P.P.; Nascimento, W.M. Pinheiro, J.B. 2015. Tratamento de sementes de hortaliças. Embrapa, Circula Técnica, 140, 16p.
- Piveta, G.; Menezes, V.O.; Pedroso, D.C.; Muniz, M.F.B.; Blume, E.; Wielewicki, A.B. 2010. Superação de dormência na qualidade de sementes e mudas: influência na produção de *Senna multijuga* (L.C. Rich.) Irwin & Barneby. *Acta Amazônica* 40: 281-288.
- Rahman, M.M.E.; Ali, M.E.; Ali, M.S.; Rahman, M.M.; Islam, M.N. 2008. Hot water thermal treatment for controlling seed-borne mycoflora of Maize. *International Journal of Sustainable Crop Production* 3: 5-9.
- Reverberi, M.; Ricelli, A.; Zjalic, S.; Fabbri, A.A.; Fanelli, C. 2010. Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87: 899-911.
- Rios Velasco, C. *et al.* 2016. Identification and antagonistic activity in vitro of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: 85-99.

- Santos, L.A.; Faria, C.M.D.R.; Marek, J.; Duhatschek, E.; Martinichen, D. 2016. Radioterapia e Termoterapia como tratamentos de sementes de soja. *Applied Research & Agrotechnology* 9: 37-44.
- Schurt, D.; Seabra, S.S.S.; Silva, A.D.; Stéfanny, A.M.; Medeiros, F.H.V. 2017. Tratamentos químicos e biológicos de sementes para Controle da mela do feijão-caupi. *Revista Agri-Environmental Sciences* 3: 30-36.
- Shaner, G.; Finney, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 67: 1051-1056.
- Silva, M.B.; Rosa, M.B.; Brasileiro, B.G.; Almeida, V.; Silva, C.A. 2005. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: Venzon, M.; Paula Junior, T. J.de; Paullini, A. *Controle alternativo de pragas e doenças*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, p.221-245.
- Souza, J.R.; Rebouças, T.N.H; Luz, J.M.Q; Amaral, C.L.F; Figueiredo, R.M; Santana, C.M.P. 2014. Potencialidade de fungicidas biológicos no controle de requeima do tomateiro. *Horticultura Brasileira* 32: 115-119.
- Torres, S. B; Minami, K. 2000. Qualidade fisiológica de sementes de pimentão. *Scientia Agricola* 57: 109-112.
- Vieira Júnior, J.R. 2005. *Procariontes residentes do filoplano do feijoeiro como agentes de biocontrole de enfermidades da parte aérea da cultura*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 146p.
- Vieira, B.N.P.; Santos, B.R.; Sousa, B.C.M; Vieira, T.A.; Lustosa, D.C. 2018. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de pimentão comercializadas em Santarém, Pará. *Agroecossistemas* 10: 241-252.

Wuaden, C.R.; Gaio, I.; Sperhacker, T.; Barro, J.P.; Milanesi, P.M. 2018. Atividade antifúngica do extrato alcoólico de própolis, álcool de cereais e do óleo essencial de manjerição sobre *Botrytis cinérea*. *Colloquium Agrariae* 14: 48-55.

Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H. 1997. *Controle integrado de doenças de hortaliças*. Viçosa, 134p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desta pesquisa contribuem para a discussão sobre a adoção de práticas mais sustentáveis e menos tóxicas às pessoas, animais e plantas, com a adoção do manejo ecológico que use métodos alternativos de tratamentos de sementes, que antecedem a implantação do sistema de produção e que favoráveis ao bom desempenho do sistema de cultivo e da conservação do meio ambiente. No manejo da antracnose sugere-se a realização de experimentos, em campo, para confirmar a ação desses tratamentos sob condições naturais.

Ressalta-se que estes resultados são base para novos testes para maior acurácia dos dados, bem como, para sua experimentação em campo. Tendo em vista que, o efeito dos tratamentos é diferenciado, de acordo com o patógeno e com a eficiência dos produtos na redução da antracnose do pimentão.

Do ponto de vista prático, a termoterapia apresenta potencial no tratamento de sementes de pimentão, eficiente no controle da fonte de inóculo e os tratamentos à base de extratos vegetais e de agentes de controle biológicos também são potenciais pelo baixo poder de contaminação.

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA ACTA AMAZONICA

It is expected that manuscripts submitted to Acta Amazonica are prepared according to the Instructions to Authors (guidelines). Thus, please make sure your manuscript follows these guidelines before uploading your submission. Manuscripts that do not adhere to the Journal's instructions are returned to authors.

1. Maximum size of an individual file should be 2 MB.
2. A letter submitting the manuscript (cover letter) should state that:
 - a) The research data are original and accurate; b) all the authors participated substantially and are prepared to assume public responsibility for its content; c) the contribution presented to this journal has not previously been published, nor has it been submitted for publication elsewhere, entirely or in part. Upload the cover letter upon submission.
3. **The manuscripts must be written in English.** The veracity of the information contained in the manuscript is exclusive responsibility of authors.
4. Maximum length for articles and reviews is 30 pages (or 7500 words, disregarding the title page), ten pages (2500 words) for short communications, and five pages for other contributions.
5. Manuscripts properly formatted according to the "Instructions to authors" are sent to Associate Editors for pre-evaluation. In this first judgment it is taken into consideration the scientific relevance and intelligibility of the manuscript, and its scope within the Amazonian context. In this phase, contributions outside of the scope of the Journal or of little scientific value are declined. Manuscripts approved in the first judgment are sent to scientific referees for evaluation, at least two reviewers; experts from institutions other than those of the authors.
6. Acceptance of manuscripts will be based on the scientific content and the correct formatting according to the Journal guidelines.
7. Manuscripts requiring corrections will be returned to the authors for revision. The revised version needs to be uploaded in the Journal system in TWO weeks' time. A response letter is required to be returned with the revised version. In this letter, please detail the modifications made to the manuscript. Recommendations not incorporated into the revised version, if any, need to be responded. The entire process is online, and can be followed at the Journal Web site, <http://mc04.manuscriptcentral.com/aa-scielo>.
8. Follow these instructions to prepare and upload the manuscript:
 - a. Authorship and manuscript information (Title page, please use the word format): This page must contain the manuscript title, authorship (last name in uppercase letter), full institutional address of the authors, and email of the corresponding author. Do NOT abbreviate names of institutions. Use an asterisk (*) to indicate the corresponding author. Only the e-mail of the corresponding author is required in the title page of the manuscript.

Upon submission, upload this file selecting the option: "Title page".

b. Main body of the text (main document, please use the word format). The text of the manuscript should follow this order: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Figure legends, and Tables. It is also required to include a "*Titulo, Resumo and Palavras-chave*" in Portuguese OR Spanish.

Upon submission upload this file as "Main document".

c. Figures. Up to seven figures are permitted for articles. Each figure MUST be uploaded as a separate file. Figures should be in the graphic format (JPG or TIFF) and of high quality and resolution (300 dpi). Use 600 dpi for bitmap illustration.

Upload each of these files selecting the option: "Figure".

d. Tables. Five tables are permitted for articles. Use single spacing and the table function for typing tables. Please insert the Tables at the end of the text of the manuscript (main document), after the "Figure legends".

9. Short communications are to be written separating the topics (Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusions) in paragraphs, but without including their titles. They also have to include all the sections of the full article (e.g.: Title, authorship, affiliation, electronic address, Abstract, Keywords, Acknowledgements, References). Three figures and two tables are permitted. Upload the "title page", "main document", figures and tables as described previously (Item 8).

10. Full name of authors and their institutional addresses and e-mails must be registered in the Journal system.

11. IMPORTANT NOTE: Manuscripts not properly formatted according to the "Instructions to Authors" are NOT accepted for publication.

FORMAT AND STYLE

12. The manuscript is to be prepared with a text editor (e.g. doc or docx), typed using "Times New Roman" 12-point font. It should be double-spaced with 3-cm margins; pages and lines consecutively numbered. For tables see Item 8d.

13. Title. Adjust to the left and capitalize the first letter of the sentence. Avoid using scientific names.

14. Abstract. It should have up to 250 words (150 for short communications). Initiate the Abstract with a couple of lines (rationale), and after that clearly state the objectives. The Abstract must succinctly contain the methodology, results and conclusions, emphasizing important aspects of the study. It should be intelligible for itself. Scientific names of species and other Latin terms should be in italic. Avoid acronyms, but if they are required give their meaning. Do not use references in this section.

15. Keywords. They must consist of four or five terms. Each keyword term may consist of two or more words. However, words used in the title cannot be repeated as keywords.

16. Introduction. This section should emphasize the purpose of the study. It should convey an overview of previous relevant studies, as well as clearly state the objectives or hypotheses to be tested. This section is expected not to exceed 35 lines. Do not anticipate data or conclusions of the manuscript and do NOT include subtitles in this section. End the Introduction with the objectives.

17. Materials and Methods. This section should contain enough information, chronologically organized to explain the procedures carried out, in such a way that other researches can be able to repeat the study. Statistical treatments of data should be described. Standard techniques need only be referenced. Measuring units and their abbreviations should follow the International System and, when necessary, should include a list of the abbreviations utilized. Specific instruments used in the study should be described (model, manufacturer, city and country of manufacturing, in parentheses). For example: "Photosynthesis was determined using a portable gas exchange system (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA)". Voucher material (sample for future reference) should be deposited in one or more scientific collections and informed in the manuscript. Do NOT use sub-subtitles in this section. Use bold, but not italic or uppercase letters for subtitles.

18. Ethics and legal aspects: For studies that requires special permissions (e.g. Ethic Committee/National Commission of Ethic in Research-CONEP, IBAMA, SISBIO, CNPq, CNTBio, INCRA/FUNAI, EIA/ RIMA, others) the registration/approval number (and publishing date) must be informed. Authors are responsible to follow all specific regulations on this issue.

19. Results. This section should present a concise description of information obtained, with a minimum of personal judgment. Do not repeat in the text all the data contained in tables and illustrations. Do not present the same information (data) in tables and figures simultaneously. Do not

use sub-subtitles in this section. Numeral should be one space-separated from units. For example, 60 °C and NOT 60°C, except for percentages (for instance, 5% and NOT 5 %).

Units: Use units and symbols of the International System. Use negative exponents instead of slash (/). For example: cmol kg⁻¹ instead of meq/100g; m s⁻¹ instead of m/s. Use space instead of point between symbols: m s⁻¹ instead of m.s⁻¹. Use a dash (NOT a hyphen) to denote negative numbers. For example: -2, instead of -2. Use kg instead of Kg and km instead of Km.

20. Discussion. The discussion should focus on results obtained. Avoid mere speculation. However, well based hypotheses can be incorporated. Only relevant references should be included.

21. Conclusions. This section should contain a concise interpretation of main results and a final message, which should highlight the scientific implications of the study. Write the conclusions in a separate section (one paragraph).

22. Acknowledgements should be brief and concise. Include funding agency. Do NOT abbreviate names of institutions.

23. References. At least 70% of references must be scientific journal articles. Citations should preferentially be from last 10 years. It is suggested not to exceed 40 references. They should be cited in alphabetical order of author names, and should be restricted to citation included in the text. If a reference has more than ten authors, use only the six first names and *et. al.* In this section, the journal title is NOT abbreviated. See the examples below:

a) Articles from periodicals:

Villa Nova, N.A.; Salati, E.; Matsui, E. 1976. Estimativa da evapotranspiração na Bacia Amazônica. *Acta Amazonica* 6: 215-228.

Articles from periodicals that do not follow traditional pagination:

Ozanne, C.M.P.; Cabral, C.; Shaw, P.J. 2014. Variation in indigenous forest resource use in Central Guyana. *PLoS ONE* 9: e102952.

b) Dissertations and theses:

Ribeiro, M.C.L.B. 1983. *As migrações dos jaraquis (Pisces: Prochilodontidae) no rio Negro, Amazonas, Brasil.* Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 192p.

c) Books:

Steel, R.G.D.; Torrie, J.H. 1980. *Principles and procedures of statistics: a biometrical approach.* 2nd ed. McGraw-Hill, New York, 633p.

d) Book chapters:

Absy, M.L. 1993. Mudanças da vegetação e clima da Amazônia durante o Quaternário. In: Ferreira, E.J.G.; Santos, G.M.; Leão, E.L.M.; Oliveira, L.A. (Ed.). *Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia.* v.2. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, p.3-10.

e) Citation of electronic Source:

CPTEC, 1999. Climanalise, 14: 1-2 (www.cptec.inpe.br/products/climanalise). Accessed on 19/05/1999.

f) Citations with more than ten authors:

Tseng, Y.-H.; Kokkotou, E.; Schulz, T.J.; Huang, T.L.; Winnay, J.N.; Taniguchi, C.M.; *et al.* 2008. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature* 454: 1000-1004.

24. Citations in the text. Citations of references follow a chronological order. For two or more references from the same year cite according to alphabetical order. Please see the following examples.

a) One author:

Pereira (1995) or (Pereira 1995).

b) Two authors:

Oliveira and Souza (2003) or (Oliveira and Souza 2003).

c) Three or more authors:

Rezende *et al.* (2002) or (Rezende *et al.* 2002).

d) Citations from different years (chronological order):

Silva (1991), Castro (1998) and Alves (2010) or (Silva 1991; Castro 1998; Alves 2010).

e) Citations in the same year (alphabetical order):

Ferreira *et al.* (2001) and Fonseca *et al.* (2001); or (Ferreira *et al.* 2001; Fonseca *et al.* 2001).

FIGURES

25. Photographs, drawings and graphics should have high definition, with high black and white contrast. Do NOT use grey tones in scatter graphs or bar charts. In scatter graphs use black (solid, dotted or dashed) lines and open or solid (circle, square, triangle or diamond) symbols. For bar charts, black, white, stripped or dotted bars can be used. Border the plotting area with a thin solid line, but do NOT use a border line in the graphic area. Label each panel of a composite figure (multiple panels) with an uppercase letter inside the plotting area, in the upper right-hand corner.

26. Avoid unnecessary legends in the plotting area. Do NOT use letters too small (< size 10) in figures (either in title axes or within the plotting area). In axes, use inward-oriented marks in scale divisions. Do NOT use horizontal or vertical grid lines, except in maps or similar illustrations. Each axis of the graphic should have a title and unit. Avoid too many subdivisions on the axis scale (five to six should suffice). On maps include a scale bar and at least one cardinal point.

27. Figures should be formatted to fit within the page dimensions of the Journal, namely, within a column (8 cm) or the width of the entire page (17 cm), and allowing space for the figure legend (caption). Illustrations can be resized during the production process in order to optimize Journal space. Scales should be indicated by a bar (horizontal) in the figure and, if necessary, referenced in the figure legend. For example, scale bar = 1 mm.

28. Figures in the text: Figures can be cited directly or indirectly (in parentheses), with the initial letter capitalized. For example: Figure 1 or (Figure 1). In the legend, figure number should be followed by a period. For example: "Figure 1. Analysis...". Meaning of symbols and acronyms used in figures must be defined in the figure legend. Figures should be self-explanatory.

29. For figures that have been previously published, the authors should clearly state in the manuscript that a permission for reproduction has been granted. The document that conceded such authorization should be uploaded (not for review) in the Journal system.

30. In addition to figures in the graphic format (TIFF, JPG), bar charts and scatter graphs generated using Excel or SigmaPlot can be uploaded. Select the option supplemental file NOT for review.

31. Color illustrations. Photographs and others illustrations are expected to be black and white. Color illustrations are accepted; however, there is a printing cost, which is charged to authors. Without costs to authors, a color illustration can be used in the Journal electronic version; whereas a black and white version of the same figure can be used in the printed version. When a color photograph is used only in the electronic version, mention it in the figure legend. For example, adding this sentence "this figure is in color in the electronic version". This information is for the readers of the printed issue.

Authors can be invited to submit a color photograph to illustrate the Journal cover page. In this case, the printing cost will be afforded by the Journal.

TABLES

32. Tables should be well organized and numbered sequentially with Arabic numerals. The numbering and the table title (legend) should be at top of the table. A table may have footnotes. The meaning of symbols and acronyms used in the table (e.g. head columns, etc.) **MUST** be defined in the table title. Use horizontal lines above and below the table, and for separating the heading from the main body of the table. Do **NOT** use vertical lines.

33. Tables should be generated using a text editor (e.g. doc or docx), and should **NOT** be inserted in the manuscript as an image (e.g. in JPG format).

34. Table citations in the text can be made directly or indirectly (in parentheses), with the initial letter capitalized. For example: Table 1 or (Table 1). In the table legend, the table number should be followed by a period, for instance: "Table 1. Analysis...". Tables should be self-explanatory.

ADDITIONAL INFORMATION

Acta Amazonica can make minor formatting and grammar corrections in the manuscript to adjust to editorial and language standard. Before printing, the proof is sent to authors for last verification. In this phase only typographical or spelling mistakes can be corrected in the proof. **NO** major changes can be made on the manuscript at this stage, otherwise the entire manuscript will return to the evaluation process by the Editorial Board.

Acta Amazonica does not charge a fee for publication. Also, there is no fee charge for submission and evaluation of manuscripts. Further information can be obtained by e-mail acta@inpa.gov.br. If your inquiry is about a submission please inform the submission number.

Subscriptions to Acta Amazonica (printed version) can be paid by check or money order. Institutional subscriptions US\$ 100.00; individual subscription US\$ 75.00. Please contact by e-mail: acta@inpa.gov.br.

Tel.: (55 92) 3643-3236 or fax: (55 92) 3643-3029