

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO

INCORPORAÇÃO DE FABÁCEAS AO SUBSTRATO DE PLANTIO PARA
CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-ESCLERÓDIO (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) EM CUBIU
*(*Solanum sessiliflorum* Dunal)*

LAYSA DE PAIVA LABORDA

Manaus, Amazonas

Dezembro, 2017

LAYSA DE PAIVA LABORDA

**INCORPORAÇÃO DE FABÁCEAS AO SUBSTRATO DE PLANTIO PARA
CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-ESCLERÓDIO (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) EM CUBIU
(*Solanum sessiliflorum* Dunal)**

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a ROSALEE ALBUQUERQUE COELHO NETTO

Coorientador: Prof. Dr. Danilo Fernandes da Silva Filho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como requisito para obtenção do título de mestre em Agricultura no Trópico Úmido.

Manaus, Amazonas

Dezembro, 2017

Folha de aprovação

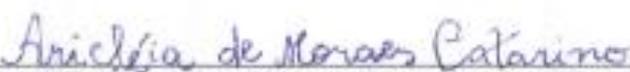
A Banca Julgadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

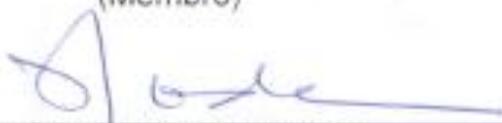
TÍTULO: "INCORPORAÇÃO DE FABÁCEAS AO SUBSTRATO
DE PLANTIO PARA CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-
ESCLERÓDIO (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) EM CUBIU (*Solanum
sessiliflorum* Dunal)"

AUTOR:

LAYSA DE PAIVA LABORDA

BANCA JULGADORA:


Dra. ARICLEIA DE MORAES CATARINO (INPA)
(Membro)


Dr. HIROSHI NODA (INPA)
(Membro)


Dr. JANIA LILIA DA SILVA BENTES (UFAM)
(Membro)

Manaus, 14 de dezembro de 2017

L123 Laborda, Laysa de Paiva
Incorporação de fabáceas ao substrato de plantio para controle da podridão-de-escleródio (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) em cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) / Laysa de Paiva Laborda. - Manaus: [s.n.], 2018. xv, 58 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - INPA, Manaus, 2018.
Orientadora: Rosalee Albuquerque Coelho Netto
Programa: Agricultura no Trópico úmido

1. Biomassa. 2. Controle fitossanitário. 3. Cubiu. I. Título.

CDD 583.79

Sinopse:

Estudou-se o potencial da incorporação de *Desmodium heterocarpon*, *Gliricidia sepium*, *Senna reticulata* e *Erythrina fusca* ao substrato de cultivo para o controle da podridão-de-escleródio (*Sclerotium rolfsii*) em cubiu (*Solanum sessiliflorum*). A incorporação de 40 g de folhas das três primeiras espécies.L⁻¹ de substrato teve eficiência similar a do fungicida (tiofanato metílico), sobre a incidência da doença. Doses de *G. sepium* a partir 80 g de folhas frescas.L⁻¹ do substrato, reduziram a incidência da doença. A incorporação de 120 g de folhas de *G. sepium*.L⁻¹ de substrato reduziu a incidência da doença a 8,33% contra 92% no tratamento com pulverização de fungicida nas plantas. Com a incorporação de 139 g.L⁻¹ de folhas de *G. sepium* ao substrato, a incidência da podridão-de-escleródio em cubiu foi totalmente suprimida, até os 77 dias de cultivo, e com 142 g a população de propágulos do patógeno foi reduzida em 20%.

Palavras-chave: Fitopatologia, controle, fabáceas.

Aos meus amados pais, Francisca Farias de Paiva e Mario Jorge da Silva Laborda,
e esposo, Moisés Moraes Pinto.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, todo poderoso, por todas as bênçãos e milagres em minha vida, sempre me mostrando que com fé tudo é possível.

Ao meu esposo, Moisés Moraes Pinto, pelo amor, companheirismo, apoio, motivação e compreensão em nossa união, os quais foram cruciais nesta jornada.

Aos meus pais, irmãos e amigos pelo incentivo e apoio, os quais contribuíram para a conclusão desta jornada.

À minha orientadora Profa. Dra. Rosalee Albuquerque Coelho Netto e ao meu coorientador Prof. Dr. Danilo Fernandes da Silva Filho pela disposição, ensinamentos, compreensão e dedicação a mim ofertados.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Gomes de Souza pela disposição, generoso auxílio e importantes ensinamentos.

Ao coordenador e professores do Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, e aos pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pela contribuição na aquisição de conhecimento.

Aos técnicos e colegas do INPA pelo auxílio e troca de conhecimento.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia pela formação oferecida através do curso de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo auxílio da bolsa de estudos que possibilitou a realização das etapas e conclusão do curso.

Meus sinceros agradecimentos.

**INCORPORAÇÃO DE FABÁCEAS AO SUBSTRATO DE PLANTIO PARA
CONTROLE DA PODRIDÃO-DE-ESCLERÓDIO (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) EM CUBIU
(*Solanum sessiliflorum* Dunal)**

RESUMO

O cultivo do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), no Amazonas, é limitado pela alta incidência da doença podridão-de-escleródio causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc. A incorporação de material vegetal ao substrato de cultivo altera a microflora presente nesse substrato, tanto pelo aumento do teor de matéria orgânica, quanto pela liberação de substâncias, durante a decomposição desse material vegetal, que podem ser tóxicas, ou benéficas, a diferentes microrganismos presentes no substrato. A matéria orgânica incorporada aumenta, também, o teor de nutrientes disponíveis para a planta. O trabalho objetivou avaliar o potencial de controle da podridão-de-escleródio em cubiu por meio de incorporação, ao substrato de cultivo, de biomassa fresca triturada de quatro espécies de fabáceas: *Erythrina fusca* e *Senna reticulata*, nativas da Amazônia, e *Desmodium heterocarpon* e *Gliricidia sepium*, exóticas. O isolado de *S. rolfsii* foi obtido de plantas de cubiu com sintomas da doença e multiplicado em arroz autoclavado. A infestação do substrato (argissolo: esterco de galinha, 2:1) foi feita com a incorporação de 10 g de arroz colonizado.L⁻¹ de substrato, em vasos preenchidos com 8 L de substrato, mantidos em viveiro. Após 20 dias da infestação, foram incorporadas 40 g da biomassa das fabáceas.L⁻¹ de substrato. As mudas de cubiu, aos 90 dias da semeadura, foram transplantadas para os vasos uma semana depois da incorporação das fabáceas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições e sete tratamentos: quatro espécies de fabáceas e três testemunhas, sem a incorporação de biomassa. Em uma das testemunhas não houve infestação do substrato e em duas, o substrato foi infestado, sendo que em uma, as plantas foram pulverizadas (9 mL.planta⁻¹) duas vezes, com intervalo de 50 dias, com fungicida (Viper 700[®], tiofanato metílico, 0,49 g do i.a.L⁻¹ de água). Outro experimento foi realizado avaliando-se o efeito de doses de *G. sepium* incorporadas ao substrato. O experimento teve delineamento inteiramente casualizado e três repetições, com seis tratamentos: incorporação de 40, 80, 120 e 160 g de *G. sepium*.L⁻¹ de substrato e duas testemunhas sem incorporação de *G. sepium* sendo que em uma, as plantas foram tratadas com fungicida. Neste, os vasos tiveram 6 L de substrato infestado com a mesma dosagem de inóculo do experimento anterior. Em ambos os experimentos foi avaliada a incidência da doença e a densidade do inóculo no substrato. No

primeiro experimento, os dados da área abaixo da curva de progresso da doença foram submetidos à ANOVA e as médias, comparadas pelo teste Tukey. No segundo experimento os dados foram submetidos à análise de regressão. No primeiro experimento as fabáceas não diferiram do fungicida na redução da incidência da podridão-de-escleródio e na supressão do patógeno. No segundo experimento, a redução da incidência da podridão-de-escleródio foi proporcional ao aumento da dose de *G. sepium*, apresentando 100% de controle com a incorporação de 139 g de *G. sepium*.L⁻¹ de substrato. A dose de 142 g reduziu a população de *S. rolfsii* no substrato em 20%.

Palavras-chave: Fabáceas, biomassa, controle fitossanitário, fitopatógeno de solo.

**INCORPORATION OF FABACEAS IN PLANT SUBSTRATE TO SOUTHERN
BLIGHT (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) CONTROL IN CUBIU (*Solanum sessiliflorum* Dunal)**

ABSTRACT

Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) cultivation in the Amazonas state is limited by the high incidence of southern blight caused by the soilborne fungus *Sclerotium rolfsii* Sacc. The incorporation of plant material into the substrate changes the microflora present by increasing the organic matter content and by the plants decomposition exudates, which may be toxic or beneficial to the different microorganisms present on the substrate. The incorporated organic matter also increases the nutrient content available to the plant. The objective of this study was to evaluate the potential for control of southern blight by the incorporation of fresh comminuted biomass of four Fabaceae species: *Erythrina fusca* and *Senna reticulata*, native to Amazonia, and *Desmodium heterocarpon* and *Gliricidia sepium*, exotic to the substrate. The isolate of *S. rolfsii* was obtained from cubiu plants with disease symptoms and multiplied in autoclaved rice. Infestation of the substrate (argisol: chicken manure, 2: 1) was done with the incorporation of 10 g of colonized rice.L⁻¹, in pots filled with 8 L of substrate, kept in a nursery. After 20 days of infestation, were incorporated 40 g of the Fabaceae biomass.L⁻¹ substrate. The cubiu seedlings, 90 days after sowing, were transplanted one week after the incorporation of the Fabaceae. The experimental design was completely randomized, with three replicates and seven treatments: four species of Fabaceae and three controls, without the incorporation of biomass. In one control the substrate was not infested and in other, the plants were sprayed (9 mL.plant⁻¹) twice, 50 days apart, with fungicide (Viper 700[®], methyl thiophanate, 0.49 g a.i. for litter of water). Another experiment was carried out to evaluate the effect of doses of *G. sepium* incorporated into the substrate. The experiment had a completely randomized design and three replicates, with six treatments: incorporation of 40, 80, 120 and 160 g of *G. sepium*.L⁻¹ substrate and two controls without incorporation of *G. sepium*. In one control, the plants were treated with fungicide. In this experiment, the pots were filled with 6 L of substrate infested as described in the previous experiment. In both experiments the disease and the inoculum incidence in the substrate were evaluated. In the first experiment, the data from the area below the disease progress curve were submitted to ANOVA and the means, compared by the Tukey test. In the second experiment, the data were submitted to regression analysis. In the first experiment the cubiu plants cultivated in substrate with Fabaceae incorporation or treated with fungicide had the same southern blight incidence and

in the pathogen suppression. In the second experiment, the incidence of southern blight was proportional to the *G. sepium* dose incorporated. With the incorporation of 139 g of *G. sepium*.L⁻¹ no diseased plants were observed. Also the incorporation of 142 g *G. sepium*.L⁻¹ substrate reduced the population of *S. rolfsii* in the substrate by 20%.

Key words: Fabaceae, biomass, phytosanitary control, soil phytopathogen.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Cubiu	17
2.1.1	Aspectos gerais.....	17
2.1.2	Usos e potencialidades	18
2.1.3	Problemas fitossanitários	19
2.2	Podridão-de-escleródio.....	19
2.3	Incorporação de matéria orgânica vegetal ao solo	21
2.3.1	Supressão de fitopatógenos por meio da incorporação de material vegetal ao solo	22
2.4	Fabáceas selecionadas para o experimento	23
2.4.1	<i>Desmodium heterocarpon</i> (L.) DC. subsp. <i>ovalifolium</i> (Prain) Ohashi.....	24
2.4.2	<i>Erythrina fusca</i> Loureiro.....	24
2.4.3	<i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.) Walp.	25
2.4.4	<i>Senna reticulata</i> (Willd.) Irwin & Barneby	25
3	OBJETIVO	27
3.1	Objetivo geral	27
3.2	Objetivos específicos.....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	Obtenção do isolado de <i>Sclerotium rolfsii</i> e produção do inóculo.....	28
4.2	Obtenção e preparo do material vegetal para incorporação ao solo.....	29
4.3	Avaliação da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido de quatro espécies de fabáceas	31
4.4	Análise química das fabáceas e do substrato.....	33
4.5	Avaliação da densidade do inóculo no substrato antes e após a incorporação do material vegetal.....	38
4.6	Nova obtenção do isolado de <i>Sclerotium rolfsii</i> e produção do inóculo	39
4.7	Coleta e preparação de <i>Gliricidia sepium</i> para incorporação ao solo	39
4.8	Avaliação da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em solo acrescido com quatro doses de <i>Gliricidia sepium</i>	39
5	RESULTADOS	41

5.1 Avaliação da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido de quatro espécies de fabáceas	41
5.2 Análise química das fabáceas e do substrato de cultivo antes e após 140 dias da incorporação do material vegetal.....	43
5.3 Avaliação da densidade do inóculo no substrato antes e 140 dias após a incorporação do material vegetal.....	46
5.4 Avaliação da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido com quatro doses de <i>Gliricidia sepium</i>	47
5.5 Análise química do substrato antes e 84 dias após a incorporação de diferentes doses de <i>Gliricidia sepium</i>	49
5.6 Avaliação da densidade do inóculo no substrato antes e 84 dias após a incorporação de diferentes doses de <i>Gliricidia sepium</i>	51
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO	57
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fabáceas incorporadas ao solo para o controle da podridão-de-escleródio em cubiu, hábito de crescimento, local de coleta e parte utilizada. Manaus, INPA, 2017.	29
Tabela 2. Tratamentos avaliados no controle da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato composto de argissolo e esterco de galinha (2:1). O inóculo foi constituído de arroz colonizado com <i>Sclerotium rolfsii</i> e foram incorporadas ao substrato infestado quatro espécies de fabáceas ou as plantas tratadas com fungicida (Viper 700 [®]), em duas aplicações (aos 1 e 50 dias após o transplante) na proporção de 9 mL da suspensão.vaso ⁻¹ . Manaus, INPA, 2017.....	32
Tabela 3. Teores de nutrientes em folhas e galhos de fabáceas incorporadas ao solo para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.	45
Tabela 4. Teores de nutrientes e pH no substrato antes e após 140 dias da incorporação das fabáceas para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.....	45
Tabela 5. Teores de nutrientes e pH no substrato antes e 84 dias após a incorporação de quatro doses de <i>Gliricidia sepium</i> para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Desmodium heterocarpon</i> na estação Experimental de Fruticultura Tropical (A); coleta de folhas de <i>Erythrina fusca</i> na Estação Experimental do Ariaú, em Iranduba (B); coleta de folhas de <i>Senna reticulata</i> na Estação Experimental do Ariaú (C) e <i>Gliricidia sepium</i> no Campus III (D). Manaus, INPA, 2017.	30
Figura 2. Viveiro utilizado para avaliação da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido de <i>Gliricidia sepium</i> . Manaus, INPA, 2017.	40
Figura 3. Incidência média da podridão-de-escleródio em cubiu aos 133 dias após o transplante, cultivado em substrato infestado com <i>S. rolfsii</i> na proporção de 120 UFC. 100 g de substrato ⁻¹ e acrescido de fabáceas ou fungicida (Viper 700 [®] , 70 g de p.c.100. L ⁻¹ de água, duas aplicações de 9 mL.planta ⁻¹). Manaus, INPA, 2017.	41
Figura 4. Curvas de progresso da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato infestado com 10 g de arroz colonizado por <i>Sclerotium rolfsii</i> . L ⁻¹ de substrato, acrescido de 40 g.L ⁻¹ de folhas de quatro espécies de fabáceas, plantas tratadas com fungicida (Viper 700 [®] , tiofanato metílico, 70 g de p.c.100. L ⁻¹ de água, e duas pulverizações de 9 mL.planta ⁻¹ , com intervalo de 50 dias) e plantas cultivadas em solo não infestado, durante 133 dias. Manaus, INPA, 2017.	42
Figura 5. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da podridão-de-escleródio em plantas de cubiu cultivadas em solo infestado com <i>Sclerotium rolfsii</i> (120 UFC.100 g de solo), acrescido ou não de folhas de fabáceas trituradas (40 g.L ⁻¹ de solo) ou pulverizadas com fungicida Viper 700 [®] (70 g de p.c.100 L ⁻¹ de água, duas aplicações de 9 mL.planta ⁻¹). Manaus, INPA, 2017.	43
Figura 6. Teores de lignina, celulose e polifenóis nas fabáceas incorporadas ao solo para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.	44
Figura 7. Teores de polifenóis (%) nas fabáceas incorporadas ao solo para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.	44
Figura 8. Número médio de propágulos de <i>Sclerotium rolfsii</i> em 100 g de substrato nos tratamentos avaliados para controle da podridão-de-escleródio em cubiu, 133 dias após o transplante. Manaus, INPA, 2017.	47
Figura 9. Relação entre doses de <i>G. sepium</i> , incorporada ao substrato, e incidência média da podridão-de-escleródio em cubiu, aos 77 dias após o transplante. Manaus, INPA, 2017.	48

Figura 10. Curvas de progresso da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato infestado com <i>Sclerotium rolfsii</i> e acrescido de quatro doses de <i>Gliricidia sepium</i> ou tratado com fungicida. Manaus, INPA, 2017.....	48
Figura 11. Relação entre doses de <i>G. sepium</i> , incorporada ao substrato, e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.	49
Figura 12. Relação entre doses de <i>G. sepium</i> , incorporada ao substrato, e número de propágulos de <i>S. rolfsii</i> em 100 g de substrato, 77 dias após o transplante das mudas de cubiu. Manaus, INPA, 2017.	51

1 INTRODUÇÃO

O cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), solanácea originária da Amazônia, é consumido como alimento, como medicamento, para reduzir níveis elevados de colesterol, ácido úrico e glicose no sangue, e na indústria de cosméticos (Pires *et al.*, 2006). Associado aos usos e pelas suas propriedades agrônômicas de rusticidade e boa capacidade de produção, o cubiu é um produto com elevado potencial mercadológico (Pires *et al.*, 2006). Sua comercialização ocorre em todo o Brasil e, em Manaus, o quilo do fruto varia de R\$ 3,00 a 5,00, propiciando bom retorno econômico para o agricultor que obtém produtividade entre 50 e 100 toneladas de frutos por hectare (Silva Filho *et al.*, 2013).

No cultivo do cubiu, uma das doenças mais impactantes é a podridão-de-escleródio por causar apodrecimento da base do caule, resultando em morte da planta. A doença diminui radicalmente a produtividade da cultura, podendo chegar a total perda, e é frequentemente observada nas áreas de produção de diversas solanáceas na Amazônia (Coelho Netto *et al.*, 2013). O agente causal da doença é o fungo, habitante de solo, *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Punja, 1985).

O controle de fitopatógenos habitantes do solo é difícil, devido às suas estratégias de sobrevivência (Cruz *et al.*, 2013). A sobrevivência de *S. rolfsii*, em solo, é prolongada, podendo chegar a até oito anos (Guerra *et al.*, 2015). A incorporação de material vegetal ao solo possibilita a melhoria da fertilidade, fornece nutrientes aos microrganismos controladores biológicos, pode proporcionar a liberação de substâncias tóxicas aos patógenos durante a decomposição da biomassa, e induzir resistência na planta hospedeira (Rossi, 2002; Stone *et al.*, 2004). Assim, a incorporação de material vegetal ao substrato de cultivo pode auxiliar no controle da podridão-de-escleródio (Tomazeli *et al.*, 2011). Dentre os compostos que são liberados durante a decomposição do material vegetal, estão lectinas e glicoproteínas liberadas na decomposição de fabáceas (Cruz *et al.*, 2013) além de ácidos graxos voláteis (acético e butírico), ácido nitroso, amônia e isotiocianatos, liberados na decomposição de brássicas (Tomazeli *et al.*, 2011).

A incorporação de brássicas (Neves *et al.*, 2007; Ambrósio *et al.*, 2008; Lord *et al.*, 2011), mamona (*Ricinus communis* Crantz), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (Basseto *et al.*, 2012), e fabáceas (Bringel e Silva, 2000; Ribas *et al.*, 2003; Cardoso *et al.*, 2006; Moraes

et al., 2006; Cruz *et al.*, 2013) ao substrato tem sido usada no controle de doenças causadas por parasitas e patógenos habitantes do solo como *Meloidogyne javanica* (Treub.) Chitwood (Neves *et al.*, 2007), *Globodera pallida* Stone (Behrens) (Lord *et al.*, 2011), *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) Golden (Bringel e Silva, 2000), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Rhizoctonia solani* Kühn (Ambrósio *et al.*, 2008), *S. rolfsii* (Rocha e Carneiro, 2016) e *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* (Cardoso *et al.*, 2006).

Em busca de definir um método ambientalmente sustentável, eficiente e de fácil acesso aos agricultores para controle da podridão-de-escleródio no cultivo do cubiu na Amazônia, foi proposta a execução desta pesquisa, para avaliar a incorporação de material vegetal de fabáceas ao substrato de plantio. As fabáceas têm ocorrência frequente na região e fácil acesso ou cultivo. A incorporação de material vegetal ao substrato, além estimular a microbiota antagonista, proporciona melhoria da fertilidade do substrato favorecendo o desenvolvimento da planta cultivada. Segundo Sharma (2006), as fabáceas se destacam nesta prática pelas suas características como alta capacidade de simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, ciclagem de nutrientes, e de acordo com Souza (2012), alta produção de biomassa vegetal, rusticidade e boa capacidade de rebrota.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o controle da podridão-de-escleródio em cubiu por meio da incorporação de material vegetal de fabáceas nativas (*Erythrina fusca* e *Senna reticulata*) e exóticas (*Desmodium heterocarpon* e *Gliricidia sepium*) da Amazônia ao substrato de cultivo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cubiu

2.1.1 Aspectos gerais

Pertencente à família Solanaceae, a espécie *Solanum sessiliflorum* Dunal é uma planta arbustiva anual, conhecida popularmente no Brasil e em outros países como cubiu, maná, topiro, cocona, tomate de índio, orinoco apple e peach tomato. A planta atinge 1 a 2 m de altura, quando na fase adulta; tem caule ereto, ramificado e coberto por pelos e folhas grandes, com cerca de 58 cm de comprimento. A inflorescência é do tipo cima, situada nos ramos entre cada grupo de três folhas, contendo de cinco a onze flores. O período de floração se inicia aos quatro a cinco meses após a germinação da semente, as flores duram apenas dois dias e, caso não haja fertilização, as flores murcham e caem. O fruto é do tipo baga, globoso ou ovóide, com três a oito por inflorescência, e massa de 20 a 490 g, com numerosas sementes, medindo cerca de 4 mm de comprimento e cuja germinação é do tipo fanerocotiledonar (Silva Filho *et al.*, 2012).

O cubiu se originou de seleções feitas por indígenas no alto rio Orinoco, na Venezuela. A espécie está distribuída na Amazônia brasileira, peruana, colombiana, equatoriana e venezuelana e nos Andes do Equador e da Colômbia, com maior abundância na Amazônia ocidental (EMBRAPA, 1997). Nos municípios ocidentais do estado do Amazonas, principalmente na região do Alto Solimões, apresenta-se na forma espontânea nos campos e áreas rurais, com alta variabilidade genética. Essa espécie é conhecida e cultivada em todas as regiões brasileiras onde as condições ambientais são favoráveis ao seu cultivo (Silva Filho *et al.*, 2012).

O cubiu pode ser cultivado em vários tipos de solos; porém não se desenvolve em solos encharcados. Pode ser cultivado em regiões com clima tropical chuvoso e em altitudes desde o nível do mar até 1.500 m. Em altitudes acima de 1.000 m a sua produção não é economicamente viável (Brasil, 2010; Silva Filho *et al.*, 2012). Sem adubação, o cubiu cresce mas sua produção não atinge 20 toneladas de frutos por hectare. Em experimentos realizados

em argissolo, com o uso de composto orgânico como fertilizante, foram obtidos rendimentos entre 25 a 146 toneladas de frutos por hectare em safra com duração de cinco meses, tendo como produção média, entre as variedades, 56 toneladas de frutos por hectare (Silva Filho *et al.*, 2013).

A propagação do cubiu é realizada por meio de sementes. O processo de cultivo, desde a sementeira até o plantio definitivo é semelhante ao recomendado para o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), com a vantagem de poder ser realizado em qualquer época do ano. Em condições favoráveis de temperatura e umidade (clima tropical chuvoso, temperatura média anual entre 26 e 32 °C e precipitação pluvial entre 2000 a 2750 mm), a germinação das sementes ocorre a partir do sétimo dia da sementeira, estendendo-se até 40 dias. As mudas são transplantadas para o local definitivo quando apresentam quatro a seis folhas definitivas com 8 a 10 cm de altura, que geralmente ocorre por volta dos 30 a 50 dias após a sementeira (Brasil, 2010; Silva Filho *et al.*, 2012).

2.1.2 Usos e potencialidades

Pelas suas propriedades agrônômicas de rusticidade e boa capacidade de produção, nutricionais, medicinais e tecnológicas, o cubiu é um produto com elevado potencial mercadológico. Na Amazônia, o fruto é utilizado como medicamento, alimento e cosmético (Pires *et al.*, 2006). O suco é usado para dar brilho aos cabelos. No mercado existem produtos cosméticos como xampus, sabonetes, loções pós-barba e sais para banho produzidos à base de cubiu (Silva Filho *et al.*, 2013). O fruto, por conter alto teor de niacina, é consumido com o objetivo de reduzir níveis elevados de colesterol, ácido úrico e glicose no sangue (Colodel *et al.*, 2017). Como alimento, o cubiu apresenta sabor ácido, reduzido grau de doçura e teor de sólidos solúveis entre 5 e 8 °Bx (Mascato *et al.*, 2015); podendo ser consumido *in natura*, em sucos ou processado em molhos e sopas, doces, geleias, compotas e sorvetes (Yuyama *et al.*, 2007; Colodel *et al.*, 2017). Apresenta alto teor de fibras, baixo teor de calorias (Mascato *et al.*, 2015), é rico em carotenóides, compostos fenólicos (Barriuso *et al.*, 2016) e pectina. No Brasil, o cubiu seco e moído é vendido como suplemento nutricional e 16 produtos deste fruto foram registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária até o ano de 2016. O Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia informou que alguns agricultores brasileiros cultivam o cubiu para exportar para o Japão, onde são utilizados para extração de pectina (Colodel *et al.*, 2017; INPA, 2017).

2.1.3 Problemas fitossanitários

As plantas de cubiu são severamente atacadas por diversas espécies de insetos. Entre estes, pulgões, tripses, moscas-brancas, lagartas, besouros, gafanhotos, minadores-de-folhas, percevejos, cochonilhas e ácaros causando danos nas raízes, caules, flores e frutos (Silva Filho *et al.*, 2012; Acioli *et al.*, 2014).

Entre as doenças que incidem nas plantas de cubiu está o damping-off ou tombamento, causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Pythium* spp. e *Phytophthora* spp. O tombamento ocorre logo após a emergência das plântulas ou após o transplante das mudas. Os sintomas se iniciam com necrose e podridão da base do caule e das raízes, provocando a morte das plantas. As que sobrevivem ao ataque apresentam crescimento mais lento e produção reduzida. Viroses como as causadas pelo groundnut ringspot virus (GRSV) resultam na paralisação do crescimento da planta (Boari *et al.*, 2002).

A podridão-de-escleródio, causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii* Sacc., é considerada uma das doenças mais importantes da cultura nas condições do Amazonas. Caracteriza-se pelo apodrecimento da base do caule, resultando em morte da planta. A doença ocorre mais intensamente no período de floração e frutificação e a enfermidade é favorecida por altas temperatura e umidade do solo ou substrato onde as plantas são cultivadas (Silva Filho, 1998).

2.2 Podridão-de-escleródio

O fungo *S. rolfsii* é um parasita facultativo, habitante de solo, causador de doença que afeta diversas espécies de plantas, gerando considerável perda econômica em cultivos agrícolas. Está distribuído em todas as regiões agrícolas, com predominância nas zonas tropicais e subtropicais, onde as condições de umidade e temperatura são elevadas (Coelho Netto *et al.*, 2013). Sua fase teliomórfica corresponde ao basidiomiceto *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough (Blum e Rodríguez-Kábana, 2004).

Este patógeno sobrevive por meio de micélio, em matéria orgânica em decomposição, e de escleródios, que são estruturas de resistência (Kimati *et al.*, 2011). Os escleródios são formados pela agregação de micélio, a qual é facilitada por uma lectina específica desenvolvida pelo fungo (Inamdar *et al.*, 2012). Os escleródios são globosos, medindo de 0,5

mm a 2 mm de diâmetro (Guerra *et al.*, 2015) e permanecem viáveis no solo por até oito anos, o que dificulta o controle da doença. Entre os fatores físicos que exercem efeito na formação esclerodial, destaca-se a luz (Bianchini *et al.*, 2005). Blum *et al.* (2016), em testes realizados *in vitro*, verificou que ocorre maior produção de escleródios e crescimento micelial de *S. rolfsii* quando o fungo é exposto à luminosidade contínua, sugerindo que a produção abundante de escleródios na superfície do solo está relacionada à presença de luz e a maior concentração de oxigênio. Kimati *et al.* (2011) constataram que a germinação dos escleródios diminui com o aumento da profundidade no solo. A faixa de pH ideal para a germinação está entre 2,6 e 4,4, mas pode ocorrer em pHs até 7,7. Em testes realizados *in vivo*, Marcuzo e Schuller (2014) verificaram que escleródios na superfície do solo tendem a germinar, provavelmente pela exposição a ciclos de seca e umidade, antes dos que estão enterrados; pois nesta última condição os escleródios permanecerem úmidos, apresentando maior período de dormência.

No processo de infecção do fungo na planta, a morte do tecido vegetal ocorre antes da penetração das hifas, devido à produção de elevadas quantidades de ácido oxálico e poligalacturonases, que atuam destruindo o tecido da hospedeira, em conjunto com o micélio. O ácido oxálico sequestra cálcio das paredes celulares da planta para formar oxalato de cálcio e diminui o pH do tecido para otimizar a atividade da endopoligalacturonase e celulase. Além de o ácido oxálico ser diretamente tóxico para os tecidos das plantas. As hifas crescem através do tecido da planta, tanto inter quanto intracelularmente, ocorrendo a síntese do oxalato nas hifas. O resultado deste processo é a necrose da região afetada, encharcamento e aparência mole dos tecidos infectados. A produção de enzimas que degradam a parede celular, em conjunto com ácido oxálico explica, pelo menos em parte, a extensa gama de plantas que sucumbe a infecção deste fungo (Punja, 1985). O padrão espacial da distribuição do inóculo de *S. rolfsii* em áreas de solo infestadas é naturalmente agrupado (Punja, 1985). A infecção por este fungo é favorecida por ferimentos na planta hospedeira (Kimati *et al.*, 2011).

Os sintomas da doença iniciam na região do colo da planta, com lesões amareladas e posteriormente marrom-escuras e aquosas, que progridem pela raiz principal e caule, destruindo o córtex e causando a morte da planta (Blum *et al.*, 2003). Nesta fase, observa-se a presença de micélio de coloração branca no colo da planta e, possivelmente, sobre o solo adjacente. Nas hifas, observam-se grânulos, que são os escleródios em formação. Estes são inicialmente brancos e tornam-se escuros quando maduros. Plantas severamente afetadas têm o colo apodrecido, provocando murcha da parte aérea, seca, queda de folhas e morte, pela interrupção do transporte da seiva (Kimati *et al.*, 2011).

Para o controle desta doença, as medidas que têm apresentado melhores resultados envolvem agentes de biocontrole, como espécies do gênero *Trichoderma* (Antoine *et al.*, 2015), solarização do solo, adição de matéria orgânica (Blum e Rodríguez-Kábana, 2004), rotação de cultura, eliminação de material vegetal infectado, maior espaçamento entre as plantas e drenagem do solo (Kimati *et al.*, 2011). O controle químico com fungicida (tiofanato metílico) (Silva Filho, 1998) e rotação de cultura auxiliam na redução do inóculo deste fungo, porém, apresentam eficiência limitada (Moralles *et al.*, 2007).

2.3 Incorporação de matéria orgânica vegetal ao solo

A incorporação de material vegetal ao solo promove melhorias físicas com aumento da porosidade, da capacidade de infiltração e da retenção de água; melhoria das propriedades químicas com aumento do teor de nutrientes e da disponibilidade destes para as plantas; e melhorias biológicas com o aumento da fonte de energia para os microrganismos e da sua diversidade no local. Com a decomposição e mineralização da biomassa incorporada ao solo, elementos químicos e diversas substâncias são disponibilizados (Souza, 2012).

As condições edafoclimáticas de uma região regulam a velocidade de decomposição dos resíduos vegetais incorporados ao solo. Resíduos com baixa relação C:N (< 25) e baixos teores de lignina e polifenóis apresentam rápida mineralização fornecendo grandes quantidades de nutrientes às plantas cultivadas. Os resíduos com elevada relação C:N (> 25) e altos teores de lignina e polifenóis sofrem decomposição mais lenta, podendo ser utilizados como cobertura morta, pois contribuem gradativamente para a melhoria das características gerais do solo (Silva e Souza, 2013).

As espécies ideais para serem incorporadas ao solo são as que acumulam maiores quantidades de nitrogênio na parte aérea, principalmente folhas, para incremento desse nutriente ao solo e disponibilização a planta cultivada, como também que as apresentam alta produção de biomassa vegetal, baixa relação C:N, teores baixos de lignina e polifenóis, sistema radicular profundo, rusticidade, boa capacidade de rebrota, e associações com fungos e bactérias para fixação de nitrogênio. Muitas fabáceas possuem estas características (Souza, 2012), sendo as tropicais nodulíferas, amplamente utilizadas pela alta qualidade de biomassa produzida (Silva e Souza, 2013).

Para um agricultor, a facilidade de acesso e frequência espontânea da espécie de fabácea, com potencial para incorporação ao solo, são fatores importantes para aproveitamento desse material (Souza, 2012).

A melhor época para incorporação de biomassa vegetal ao solo é no período de floração da espécie quando a planta possui maior teor de nitrogênio em suas folhas. Para arbustos e árvores a poda deve ser feita a 1 m de altura e nas herbáceas, incorpora-se toda a planta ao solo. A recomposição da folhagem geralmente acontece em pouco tempo (Souza, 2012).

2.3.1 Supressão de fitopatógenos por meio da incorporação de material vegetal ao solo

Uma prática usada para o controle de fitopatógenos habitantes de solo é a incorporação de material vegetal ao substrato de cultivo. A decomposição dos resíduos vegetais pode liberar substâncias tóxicas que reduzem a população dos microrganismos patogênicos. Entre as substâncias liberadas no processo de decomposição, especialmente por fabáceas, encontram-se lectinas e glicoproteínas (Cruz *et al.*, 2013), além de ácidos graxos voláteis como acético e butírico, ácido nitroso, amônia e isotiocianatos, liberados, principalmente, por brássicas (Tomazeli *et al.*, 2011).

Esta prática, conhecida como biofumigação ou desinfestação biológica do solo, proporciona a inativação ou a supressão de diferentes fitopatógenos habitantes do solo, diminuindo a incidência de doenças nas plantas cultivadas (Neves *et al.* 2007). Além dos resíduos das brássicas, que apresentaram efeito na supressão de populações de patógenos no solo (Neves *et al.*, 2007; Lord *et al.*, 2011), outras espécies como mamona (*Ricinus communis* Crantz) e mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) também apresentam resultado positivo na redução da população de patógenos habitantes do solo (Basseto *et al.*, 2012).

Além das substâncias tóxicas liberadas na decomposição das plantas, o incremento no teor de matéria orgânica favorece a população de microrganismos antagonistas. Ambrósio *et al.* (2008) observaram que as folhas e ramos de brócolis (*Brassica oleracea* L.), eucalipto (*Eucalyptus grandis* Hill), mamona e mandioca-brava, incorporadas ao solo, associados à solarização, inativaram fitopatógenos como *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *M. phaseolina* e *R. solani*. A incorporação isolada desses materiais vegetais, no entanto, não apresentou ação positiva no controle dos fitopatógenos. Segundo Rocha e Carneiro (2016), solarização com incorporação de folhas de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook) no solo foi eficiente na

redução da viabilidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *S. rolfsii*. Na solarização, a temperatura do solo foi mais alta, quando associada à adição de material vegetal ao solo.

Bringel e Silva (2000), verificaram que a incorporação de fabáceas no solo reduziu a densidade populacional de nematóides parasitas de plantas. Ribas *et al.* (2003), avaliando o consórcio de *Crotalaria juncea* L. com quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* Moench.), constataram redução no número de galhas formadas por fitonematóides e consequente aumento na produtividade do quiabeiro. Moraes *et al.* (2006) verificaram que a incorporação de mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy) e crotalária (*C. juncea*) em cultivo orgânico de alface americana (*Lactuca sativa* L.) e repolho (*Brassica oleracea* var. capitata L.), reduziu em 42 e 51% a população de *Meloidogyne* spp., respectivamente.

Em um experimento, Cruz *et al.* (2013), demonstraram o potencial de controle do *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomateiro (*Solanum lycopersicon* L.) por meio da incorporação da biomassa de leucena (*Leucaena leucocephala* Wiltt.), feijão-guandu (*Cajanus cajan* L.), amendoim-forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov.) e feijão-de-porco (*Canavalia ensiformes* DC.) ao solo. A leucena (80 g L⁻¹), o feijão-de-porco (60 g L⁻¹) e o amendoim-forrageiro (40 g L⁻¹) reduziram em 73,3% da incidência de fusariose e o feijão-guandu (60 g L⁻¹), em 53,3%. Em outro teste, Cardoso *et al.* (2006), observaram 100% de controle da murcha bacteriana causada por *R. solanacearum* no tomateiro com a incorporação da parte aérea de feijão-guandu e de crotalária (*C. juncea*) indicando que este é um método eficiente para controle da doença.

Pesquisas com resíduos orgânicos incorporados ao solo indicam que a eficiência de controle de doenças depende de fatores como a espécie da planta cultivada, do patógeno, do tipo e do grau de decomposição da matéria orgânica. A incorporação de resíduos orgânicos pode tanto apresentar efeito de supressão do microrganismo quanto aumentar sua sobrevivência, devido ao fornecimento de nutrientes e outros fatores (Cardoso *et al.*, 2006).

2.4 Fabáceas selecionadas para o experimento

A família Fabaceae agrupa mais de 19 mil espécies de plantas, divididas em três subfamílias: Faboideae, Mimosoideae e Caesalpinioideae que estão distribuídas em várias regiões pelo mundo (Souza, 2012), sendo a Caesalpinioideae e Mimosoideae comumente encontradas nas regiões tropicais (Barroso, 1984). Estima-se que 15% destas espécies crescem

nos ecossistemas do Brasil, sendo, portanto, um país rico em fabáceas. Algumas plantas desta família botânica são importantes para a agricultura por estabelecerem simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (Souza, 2012), por contribuírem para a ciclagem de nutrientes (Moraes *et al.*, 2006) e por conterem substâncias com diferentes funções como alelopatia, fungicida, inseticida, antioxidante, controle de ação de hormônios vegetais, inibidores de enzimas, entre outros (Harborne e Willians, 2000).

2.4.1 *Desmodium heterocarpon* (L.) DC. subsp. *ovalifolium* (Prain) Ohashi

Desmodium heterocarpon ou desmódio, pertencente à subfamília Papilionoideae, é uma planta rasteira (erva) estolonífera, densa, com crescimento até um metro de altura. Possui hastes muito ramificadas, folhas coriáceas com um a três folíolos e inflorescência em racemo, densamente florido (roxo). É nativa do sudeste tropical da Ásia, e está distribuída na China, Índia, Tailândia, Malásia e vários países situados nas regiões tropicais. Esta espécie é adaptada a solos de baixa fertilidade e ácidos e a regiões de alta precipitação além de apresentar alguma tolerância à seca (Schultze-Kraft, 1992). Realiza simbiose com bactérias nitrificadoras e contribui para a ciclagem de nutrientes. É usada como cobertura do solo, adubo verde, no controle de plantas daninhas e para evitar a erosão do solo (Cadisch *et al.*, 1996). Apesar de ser uma espécie exótica é comumente encontrada na Amazônia e cultivada por agricultores como planta de cobertura ou para adubação verde (Pereira *et al.*, 1995; Espindola *et al.*, 1997).

2.4.2 *Erythrina fusca* Loureiro

Erythrina fusca ou mulungu, pertencente à subfamília Papilionoideae, é uma planta de porte arbóreo atingindo 15 a 20 m de altura. Apresenta copa frondosa com folhas trifolioladas, flores alaranjadas e frutos em vagens. É originária das regiões tropicais das Américas Central e do Sul e encontra-se distribuída por vários países do mundo. É encontrada em áreas de várzea e matas ciliares (Lorenzi, 1998; Souza, 2012). A espécie estabelece simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio com alta eficiência na nodulação. Apresenta potencial para recuperação de áreas degradadas e pode ser utilizada em consórcio com cacauzeiros (*Theobroma cacao* L.) e cupuaçuzeiros [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.

Schum] em sistemas agroflorestais. A madeira é usada para lenha e as folhas como adubo verde na região Amazônica, por produzir muita biomassa e bom rebrotamento, além de aceitar bem a poda regular. Um quilo de folhas da espécie contém 46,6 g de N, 7 g de K, 12 g de Ca, 3 g de Mg, 90 mg de P, 18 mg de Fe, 18 mg de Zn e 90 mg de Mn. A espécie ocorre em toda a Amazônia e é, comumente, encontrada nas margens do rio Solimões e utilizada como adubo verde na região (Souza, 2012).

2.4.3 *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp.

Gliricidia sepium, conhecida como gliricidia, pertencente à subfamília Papilionoideae, é uma espécie arbórea com 12 a 15 metros de altura (Bala *et al.*, 2003). É nativa das Américas Central e do Sul e encontra-se distribuída em todo o mundo, comumente nas regiões tropicais (Sumberg, 1985). Apresenta inflorescência do tipo cacho ou racemo de coloração lilás a branca, as folhas são imparipinadas com 3 a 17 folíolos com odor adocicado devido à ocorrência de cumarina e seus frutos são vagens chatas (Drumond *et al.*, 1999). A espécie apresenta alta adaptabilidade a elevadas altitudes, tolera seca e solos ácidos e resiste à geada (Little, 1983). Tem alta capacidade de simbiose com bactérias nitrificadoras e produz até 70 kg de matéria verde por planta, ao ano, em condições tropicais. É utilizada para forragem e lenha (Bala *et al.*, 2003) e para adubo verde (Barreto e Fernandes, 2001) em plantio de cacau, por exemplo (Dunsdon *et al.*, 1991), e em cultivo em aleia (Paula *et al.*, 2015). Apresenta potencial fungicida, como demonstrado por Torrealba (2006), com a inibição de 50% do crescimento micelial e da produção de escleródios de *S. rolfsii in vitro*, utilizando o extrato etanólico dessa espécie. Apesar de a espécie ser exótica, é comumente encontrada na Amazônia e usada como adubo verde na região (Souza, 2012). Um quilo de suas folhas contém 106,9 g de C, 10,1 g de N; 4,3 g de K; 3,6 g de Ca; 0,6 g de Mg; e 0,41 g de P (Zaharah e Bah, 1999).

2.4.4 *Senna reticulata* (Willd.) Irwin & Barneby

Senna reticulata, conhecida como mata-pasto é uma planta arbórea medindo 2,5 m a 4 m de altura, podendo atingir até 8 m de altura, com caule fino, 4 cm a 5 cm de diâmetro na altura do peito, podendo atingir 13 cm de diâmetro. Pertence à subfamília Caesalpinioideae.

Sua copa é densa e bastante ramificada, com folhas compostas com cinco a sete pares de folíolos grandes, flores em pêndulos grandes amarelados e frutos em vagens longas. É originária das Américas, ocorrendo desde a América Central, incluindo a região do Caribe, até a América do Sul, incluindo a Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela. Na Amazônia, está presente em toda a calha do rio Amazonas e em todos os estados. É encontrada em áreas alteradas, abertas e de várzea. Apesar de esta espécie agrupar-se na família Fabaceae, não realiza simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio (Souza, 2012). Porém, por produzirem muita biomassa são utilizadas na adubação verde pelos agricultores (Parolin, 2001) e na medicina pelas suas propriedades antifúngicas, bactericidas, antivirais e antimaláricas (Santos *et al.*, 2008). Um quilo de suas folhas contém 32 g de N; 7,7 g de K; 33,8 g de Ca; 2,1 g de Mg; 170 mg de P; 198 mg de Fe; 30 mg de Zn; e 31 mg de Mn (Souza, 2012).

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da incorporação de material vegetal das fabáceas *Desmodium heterocarpon*, *Erythrina fusca*, *Senna reticulata* e *Gliricidia sepium* ao substrato de cultivo, no controle da podridão-de-escleródio em cubiu.

3.2 Objetivos específicos

Determinar a quantidade de matéria fresca a ser incorporada para o controle da doença.

Avaliar o impacto da incorporação de matéria fresca das diferentes espécies de fabáceas ao solo sobre a população de *Sclerotium rolfsii* Sacc.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Fitopatologia e Temático de Solos e Plantas (LTSP) e no viveiro de produção de mudas do Campus III do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, em Manaus, AM (03° 15' 17,2" S e 60° 14' 51,1" W. Gr.) nos anos de 2016 e 2017.

4.1 Obtenção do isolado de *Sclerotium rolfsii* e produção do inóculo

O fungo *Sclerotium rolfsii* foi isolado a partir de uma planta de cubiu cultivada na Estação Experimental do Ariaú do INPA, em Iranduba, AM (03° 15' 17,2" S e 60° 14' 51,1" W. Gr.), seguindo metodologia de Severino *et al.* (2014) e cultivado em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) (Marcuzzo e Schuller, 2014) em placas de Petri (90 mm de diâmetro x 15 mm de altura). As culturas foram mantidas por dez dias, sob temperatura de 26°C ± 1 e fotoperíodo de 12 h proporcionado por lâmpadas fluorescentes tubulares 40 w T8 tipo luz do dia 6400k, localizadas a 50 cm acima das placas.

Para a produção do inóculo, foram utilizados 5 kg de arroz sem casca embebidos em 7 L de água destilada, por 12 h, e escorridos em peneira. Porções de 250 g de arroz foram esterilizadas em autoclave (AV-30, Phoenix, Araraquara-Brasil) por 20 min a 120 °C, por dois dias consecutivos, em saco de polipropileno (25 x 18 cm, espessura de 10 µm). Para fechamento dos sacos utilizou-se um anel de cano de PVC (40 mm de largura x 38,1 mm de diâmetro) preso com uma liga de borracha na boca do saco e um tampão de algodão fechando a entrada do tubo, coberto por jornal. Após este procedimento, dez discos (0,5 cm de diâmetro) de colônia de *S. rolfsii*, cultivada por dez dias em meio BDA, foram transferidos para cada saco de polipropileno contendo arroz autoclavado. Os sacos foram mantidos sob temperatura de 26 °C ± 1 com o conteúdo sendo revolvido diariamente para uniformização do crescimento fúngico até que os grãos estivessem totalmente colonizados, o que ocorreu aos 23 dias de cultivo. Em seguida, o inóculo dos diferentes sacos foi misturado, para uniformização, e separado em porções de 80 g para infestação do substrato contido em cada vaso. Os

procedimentos adotados foram baseados em Barbosa *et al.* (2010); Tomazeli *et al.* (2011); Coelho Netto *et al.* (2013).

4.2 Obtenção e preparo do material vegetal para incorporação ao solo

O material vegetal incorporado ao substrato (mistura de argissolo e esterco de galinha na proporção de 2:1) nos vasos foi constituído pela biomassa fresca de quatro espécies de fabáceas: *Desmodium heterocarpon* (L.) DC. subsp. *ovalifolium* (Prain) Ohashi, *Erythrina fusca* Loureiro, *Senna reticulata* (Willd.) Irwin & Barneby e *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. (Figura 1). Os locais de coleta e as partes utilizadas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Fabáceas incorporadas ao solo para o controle da podridão-de-escleródio em cubiu, hábito de crescimento, local de coleta e parte utilizada. Manaus, INPA, 2017.

Espécie	Local de coleta	Material utilizado
Desmódio	Estação Experimental de Fruticultura Tropical (02° 37' 12" S e 60° 02' 27" W. Gr.), Manaus-AM	Folhas e caule
Mulungu	Estação Experimental do Ariaú (03° 15' 17,2" S e 60° 14' 51,1" W. Gr.), Iranduba, AM	Folhas
Mata-pasto	Estação Experimental do Ariaú (03° 15' 17,2" S e 60° 14' 51,1" W. Gr.), Iranduba, AM	Folhas
Gliricidia	Campus III do INPA (03° 15' 17,2" S e 60° 14' 51,1" W. Gr.), Manaus, AM	Folhas



Figura 1. *Desmodium heterocarpon* na estação Experimental de Fruticultura Tropical (A); coleta de folhas de *Erythrina fusca* na Estação Experimental do Ariaú, em Iranduba (B); coleta de folhas de *Senna reticulata* na Estação Experimental do Ariaú (C) e *Gliricidia sepium* no Campus III (D). Manaus, INPA, 2017.

As coletas foram realizadas no período de floração das plantas, pela manhã, com tesoura de poda para as plantas de porte baixo a médio e podão para as de porte alto. O material vegetal foi pesado com balança mecânica portátil (SK-05, Spring, Guangdong-China). Foram coletados 3 kg de folhas e/ou caule para compor a biomassa de cada espécie, sendo 2,9 kg triturados em processador (Master Super, Philips Walita, São Paulo-Brasil) e

armazenados à sombra, por 24 horas, até a incorporação ao substrato dos vasos. Uma porção de 100 g de material de cada espécie foi seca em estufa com ventilação forçada, a 63 ± 2 °C, triturada em moinho de faca e submetida à análise química no LTSP, do INPA, de forma descrita posteriormente.

4.3 Avaliação da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido de quatro espécies de fabáceas

Para a formação de mudas, sementes de cubiu (cultivar 8 do banco ativo de germoplasma do INPA, safra 2016) foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 1,5% por 3 min e transferidas para bandejas de isopor (128 células) contendo uma mistura de argissolo e esterco de galinha na proporção de 5:1. A germinação ocorreu cerca de 15 dias após a semeadura e, aos 45 dias da semadura, as plantas foram transferidas para copos plásticos, de 300 mL de capacidade, furados na base, contendo uma mistura de argissolo e esterco de galinha na proporção de 4:1. O processo de formação de mudas ocorreu em viveiro com cobertura de plástico transparente e irrigação diária automática por meio de aspersores, localizado na Estação Experimental de Olericultura Alejo van der Pahlen – INPA (02° 59' 45,7" S e 60° 01' 22,3" W. Gr.), em Manaus - AM.

Para o primeiro experimento iniciado em julho de 2016, vasos plásticos com 8,7 L de capacidade, foram preenchidos com 8 L de substrato (argissolo: esterco de galinha, 2:1). A infestação foi feita com a incorporação de 10 g de arroz colonizado com *S. rolfsii*. L⁻¹ de substrato ou 80 g do inóculo em cada vaso (Barbosa *et al.*, 2010). A população do patógeno foi quantificada aos 20 dias da infestação do substrato seguindo metodologia descrita por Rodríguez-Kábana *et al.* (1980). Após o período de infestação do substrato, 20 dias, foram incorporados 320 g da biomassa fresca e triturada (40 g de biomassa. L⁻¹ de substrato) de cada espécie de fabácea ao substrato de cada vaso. Após uma semana deste procedimento, uma muda de cubiu, aos 90 dias da semeadura, foi transplantada para cada vaso. Os vasos permaneceram em viveiro coberto com sombrite (50% de luz incidente), aberto lateralmente, no Campus III do INPA. As plantas receberam irrigação diária, no início da manhã e no final da tarde.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com sete tratamentos (quatro espécies de fabáceas incorporadas ao substrato e três testemunhas) (Tabela 2) e três repetições. A unidade experimental foi constituída de três vasos com uma planta de cubiu em

cada. No experimento foram 63 vasos, constituindo 21 parcelas. Nas testemunhas não houve incorporação de biomassa das fabáceas ao substrato dos vasos. Na primeira testemunha houve infestação do substrato, na segunda, não houve infestação do substrato, e na terceira, houve infestação do substrato e duas aplicações de fungicida sistêmico (Viper 700[®], tiofanato metílico, Iharabras S.A. Indústrias Químicas, Sorocaba-Brasil) nas plantas de cubiu na concentração de 70 g (p.c.) por 100 L de água. O fungicida foi aplicado na proporção de 9 mL da suspensão por planta, utilizando-se um pulverizador manual, com pulverização direcionada para o colo da planta. A primeira aplicação foi um dia após o transplante e a segunda aos 50 dias após o transplante (pré-florada). A incidência da doença foi avaliada semanalmente contabilizando as plantas com sintomas de necrose e constrição do colo em relação as plantas sem sintomas por repetição, até o período de floração, aos 120 dias após o transplante. Com os dados de incidência da podridão-de-escleródio foram elaboradas curvas de progresso da doença e calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) por meio da fórmula: $AACPD = \sum [(y_1+y_2).2^{-1}].(t_2-t_1)$, onde y_1 e y_2 se referem a duas avaliações sucessivas da incidência da doença realizadas nos tempos t_1 e t_2 , respectivamente (Campbell e Madden 1990). Os dados da AACPD foram transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificação de significância pelo teste F. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 1 e 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software ASSISTAT versão 7.7. Ao final do experimento foi feita a quantificação da população do patógeno no substrato dos vasos descrita no item 4.5 “avaliação da densidade do inóculo no substrato”.

Tabela 2. Tratamentos avaliados no controle da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato composto de argissolo e esterco de galinha (2:1). O inóculo foi constituído de arroz colonizado com *Sclerotium rolfsii* e foram incorporadas ao substrato infestado quatro espécies de fabáceas ou as plantas tratadas com fungicida (Viper 700[®]), em duas aplicações (aos 1 e 50 dias após o transplante) na proporção de 9 mL da suspensão.vaso⁻¹. Manaus, INPA, 2017.

Tratamento	Inóculo (10 g de arroz.L ⁻¹)	Fabácea (40 g.L ⁻¹)	Viper 700 [®] (70 g.100 L ⁻¹)
1	Sim	<i>Desmodium heterocarpon</i>	Não
2	Sim	<i>Erythrina fusca</i>	Não
3	Sim	<i>Gliricidia sepium</i>	Não
4	Sim	<i>Senna reticulata</i>	Não
5	Sim	-	Não
6	Sim	-	Sim

4.4 Análise química das fabáceas e do substrato

Nas fabáceas foram determinados os teores de polifenóis (Anderson e Ingram, 1993), de lignina (Van Soest, 1963), de celulose (Embrapa, 2011) e de macro e micronutrientes (Embrapa, 1999). Para as análises, 100 g de material vegetal de cada espécie foram secos em estufa com ventilação forçada (TE-394/3, Tecnal, Piracicaba-Brasil) durante 72 horas, a 63 ± 2 °C, e moídos em moinho de facas (Willey TE- 650, Tecnal, Piracicaba-Brasil).

Para a determinação do teor de polifenóis, 0,75 g de cada amostra foram transferidos para tubos de digestão onde foram adicionados 20 mL de metanol 50%. Os tubos foram cobertos com filme plástico e mantidos em banho-maria (NT 265, Nova Técnica, Piracicaba-Brasil) a 78 °C por 1 hora. Em seguida, os extratos foram filtrados em papel de filtro quantitativo (JP42, Quanty, São José dos Pinhais-Brasil) e transferidos para balões volumétricos, usando-se metanol 50% para lavar o resíduo vegetal e H₂O destilada para completar o volume de 50 mL do balão. Os extratos foram armazenados em frascos de vidro âmbar e destes foi pipetado 1 mL para balões volumétricos de 50 mL. Em cada balão, foram adicionados 20 mL de H₂O destilada, 2,5 mL de reagente Folin-Denis (Anderson e Ingram, 1993), 10 mL de solução carbonato de sódio 17% e H₂O destilada para completar o volume de 50 mL. Após 20 min de repouso, os extratos foram filtrados em papel de filtro para leitura das absorvâncias das amostras a 760 nm em espectrofotômetro (Shimadzu, Mini 1240, Kyoto-Japão), juntamente com as soluções para determinar a curva padrão de absorvância. A curva padrão foi estabelecida com as absorvâncias de soluções preparadas com 0, 1, 2, 3, 4 e 5 mL da solução padrão de ácido tânico (0,1 mg de ácido tânico.mL⁻¹ de água destilada) acrescidos de 20 mL de H₂O destilada, 2,5 mL de reagente Folin-Denis (Anderson e Ingram, 1993), 10 mL de solução carbonato de sódio 17% e H₂O destilada para completar o volume de 50 mL do balão. Os teores de polifenóis totais nas amostras das fabáceas foram calculados por meio da fórmula: $C.5.W^{-1}$, onde C é a absorvância da amostra vegetal e W é a massa da amostra vegetal (Anderson e Ingram, 1993).

Para a determinação de lignina e celulose, 1 g de material vegetal de cada fabácea (massa 1) foi transferido para Erlenmeyers de 250 mL. Nestes, foram adicionados 100 mL de solução de brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) (Van Soest, 1963) e três gotas de octan-

2-ol como agente-antiespumante. A suspensão foi mantida em chapa quente (Xmtd-701, Biomixer, São Paulo-Brasil) por 1 h a 80-90 °C. Em seguida, os extratos foram filtrados em cadinhos de vidro com placa de fundo poroso, utilizando bomba à vácuo (DA-605, Japan, Kyoto-Japão). Após o esfriamento das amostras em dessecador (55300, Labconco, Kansas City-US) com sílica gel, a massa das amostras (massa 2) foi determinada em balança analítica (AY220, Shimadzu, Belo Horizonte-Brasil). O resíduo nos cadinhos foi lavado três vezes, sob sucção à vácuo, com 50 mL de água destilada a 95 °C e com acetona pura até que o líquido da lavagem do resíduo estivesse cristalino. As amostras foram, então, secas em estufa (K49E, Carbolite, São Paulo-Brasil) a 105 °C por 2 h, esfriadas em dessecador e pesadas (massa 3). Às amostras foi adicionada solução de H₂SO₄ 72% até a metade do volume de cada cadinho. Após a drenagem da solução, foi adicionado H₂SO₄ 72% novamente. Após três horas da segunda adição, o conteúdo dos cadinhos foi filtrado à vácuo e lavado com água destilada até que o líquido filtrado estivesse cristalino. Em seguida, o resíduo de cada cadinho foi lavado com 50 mL de acetona pura e filtrado a vácuo até que os cadinhos estivessem sem líquido em seu interior. Em seguida foram secos em estufa a 105 °C por 2 h, esfriados em dessecador e pesados (massa 4). Posteriormente, os cadinhos foram lavados novamente com acetona e filtrados a vácuo por duas horas, resfriados em dessecador e pesados (massa 5). Para o cálculo do teor de lignina aplicou-se a fórmula [(massa 4 – massa 5).100. massa 1⁻¹] e para celulose [(massa 3 – massa 4).100.massa 1⁻¹], com os resultados dados em porcentagem (Van Soest, 1963).

A análise dos teores de P, K, Ca, Mg, Zn, Mn e Fe foi realizada por digestão com solução nitroperclórica (3 HNO₃: 1 HClO₄). Para este procedimento, 0,5 g de cada material vegetal moído foi transferido para tubos de digestão. Aos tubos foram adicionados 8 mL da solução nitroperclórica. Após 24 horas, transferiram-se as amostras para blocos digestores, em capela (SLIM-150, Spencer, Santo André-Brasil). Os blocos permanecerem 30 min a 50 °C, 100 °C, 150 °C e 210 °C até o volume final dos extratos chegar a mais ou menos 1 mL. Logo, as amostras foram retiradas do bloco digestor e mantidas em capela. Após o esfriamento dos extratos, os mesmos foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL, o volume foi completado com água destilada e os extratos foram armazenados em frascos de vidro ambar. Os teores (mg.kg⁻¹) de Fe, Zn e Mn foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica (EAA) (1100B, Perkin Elmer, Alva-Escócia) e pela fórmula: [(amostra.diluição - branco).50.1000.1000⁻¹].0,5⁻¹; onde amostra é a leitura do extrato feita em EAA, diluição é o número de vezes que a amostra foi diluída, branco é a leitura da solução sem o material vegetal feita em EAA, 50 é o volume (mL) da solução, 0,5 é a massa do material vegetal seco

e moído em gramas, e 1000 para expressar o resultado em quilogramas. Para determinação de Ca, Mg e K os extratos foram diluídos 20 vezes com solução de óxido de lantânio a 0,1% (0,5 mL dos extratos e 9,5 mL de lantânio a 0,1%). Os valores (g.kg^{-1}) obtidos no EAA foram empregados na fórmula: $\{[(\text{amostra.diluição} - \text{branco}).50.1000.1000^{-1}].0,5^{-1}\}.1000^{-1}$. Para a determinação do P, as amostras foram diluídas 20 vezes (0,25 mL de cada amostra e 4,75 mL de água destilada). Para preparo da curva padrão de P, 5 mL de soluções de 0 (água destilada), 0,1, 0,3, 0,6, 0,9 e 1,2 μL de ácido fosfórico (H_3PO_4) foram transferidos para tubos de ensaio. Adicionou-se 1 mL de molibdato de amônio e 1 mL de ácido ascórbico 3%. Os extratos foram agitados em agitador (VTX-F, Biomixer, Porto Alegre-Brasil) e mantidos em repouso por 30 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 725 nm. Os valores obtidos foram utilizados na fórmula: $\text{P} (\text{mg.kg}^{-1}) = \text{P} (\mu\text{g.mL}^{-1}).50.0,5^{-1}$; onde $\text{P} (\mu\text{g.mL}^{-1}) = (\text{leitura da amostra} - \text{intercepção da curva}).\text{inclinação da curva}^{-1}$. diluição – previsão da curva (Embrapa, 2011).

Para determinação do N-total utilizou-se o método Kjeldahl (digestão sulfúrica) onde 0,1 g de cada amostra e do padrão foi transferida para tubos de digestão e misturada com 5 mL da solução digestora (Anderson e Ingram, 1993), além de dois brancos (sem material vegetal). Os tubos foram mantidos em bloco digestor, em capela por 20 min a 50 °C, aumentando-se a temperatura gradativamente de 50 em 50 °C, aguardando 20 min, até atingir 350 °C, quando a digestão foi concluída. Para a destilação, os extratos contidos nos tubos, após o esfriamento, foram diluídos com 20 mL de água destilada. Os extratos foram transferidos, para balões de destilação e nestes foram adicionados 15 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 40% e levados ao destilador. Como solução receptora foram colocados 10 mL de ácido bórico (100%) em um Becker de 100 mL. A destilação foi finalizada quando o volume do Becker atingiu 60 mL. A solução com coloração verde menta, indica a presença de nitrogênio na amostra. Para a titulação, as amostras foram tituladas com ácido sulfúrico a 0,01 N usando-se bureta digital (Digitratpro, Jencons, Presidente Prudente-Brasil) até que as amostras apresentassem uma coloração rósea permanente. O volume de ácido sulfúrico consumido em cada amostra foi utilizado da fórmula: $\text{N total} (\text{g.kg}^{-1}) = [(\text{amostra} - \text{branco}).0,01.14,0067]. \text{massa da planta}^{-1}$; onde a amostra é o volume de H_2SO_4 gasto na titulação da amostra, o branco é o volume de H_2SO_4 gasto na titulação do branco, 0,01 é a normalidade da solução de ácido sulfúrico usada na titulação, 14,0067 é a massa molecular do N, e massa da planta é a massa do material vegetal seco e moído em gramas (Anderson e Ingram 1993).

Para a determinação do C utilizou-se o método Walkley-Black (Embrapa, 1999) no qual 0,05 g de material vegetal seco e moído de cada espécie de fabácea foram misturados com 10 mL de dicromato de potássio 1 N e 20 mL de H₂SO₄ em Erlenmeyers de 500 mL. Após o esfriamento, foram adicionados 200 mL de água destilada e três gotas do indicador de fenantrolina (1,485 g de fenantrolina monohidratada e 0,695 g de FeSO₄.7H₂O) em cada Erlenmeyer. Em seguida, procede-se a titulação com solução de sulfato ferroso 0,5 N até a cor passar de azul para vermelho-marrom. O branco consistiu de 10 mL da solução de dicromato de potássio 1 N. O volume (mL) de sulfato ferroso consumido foi utilizado na fórmula: $\{(V_b - V_a) \cdot N \cdot 0,3 \cdot 1,33\} \cdot 10$; onde V_b é o volume de sulfato ferroso titulado no branco, V_a é o volume de sulfato ferroso titulado na amostra, N é a normalidade do sulfato ferroso (0,48), p é a massa peso da amostra vegetal em grama (0,05), 1,33 é o fator de correção (a eficiência do método é de 75%) e 10 é para expressar a unidade de quilogramas de carbono orgânico (g.kg⁻¹) nas amostras. O teor de matéria orgânica foi calculado usando-se a fórmula: MO (g.kg⁻¹) = C (g.kg⁻¹) x 1,724 (Embrapa, 1999).

Para a análise química do substrato, antes da incorporação das fabáceas foi coletada uma amostra composta (10 amostras simples do substrato total) de 50 g e para a análise, ao final do experimento, foi coletada uma amostra composta, contituida da mistura de uma amostra de 50 g por repetição, de cada tratamento. As amostras foram secas ao ar, destorroadas e passadas em peneira de malha de 2 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA).

Para determinação do pH em água, 10 g de TFSA de cada amostra foram misturados, durante 1 minuto, com 25 mL de água destilada em copos plásticos de 50 mL e deixados em repouso por 1 h. O potenciômetro (MPA210A, MS Tecnoyon, Piracicaba-Brasil) foi calibrado com duas soluções tampão: apH 4,00 e pH 7,00. As amostras foram homogeneizadas imediatamente antes da leitura do pH e o resultado, expresso em leitura direta no aparelho (Embrapa 2011).

Para determinação do Ca e Mg utilizou-se o método de extração com KCl 1M, onde 5 g de TFSA de cada amostra foram misturados com 50 mL da solução extratora de KCl 1M e agitados por 15 min em mesa agitadora (HS501D, Janke & Kungel, Freiburg-Alemanha) a ± 300 rpm. Após a agitação, os frascos foram mantidos em repouso por 1 h, o sobrenadante filtrado com papel de filtro e armazenado em frascos de vidro. Para a leitura no EAA, as amostras foram diluídas 20 x com solução de lantânio 0,1%. Para o cálculo dos teores de Ca e Mg utilizaram-se as seguintes fórmulas: Ca²⁺ (cmol_c.Kg⁻¹) = [(LACa.D - LABr).Vt.

$100].(1000.Ps.40,08.2^{-1})^{-1}$; e Mg^{2+} ($cmol_c.Kg^{-1}$) = $[(LAMg.D - LABr).Vt.100].(1000.Ps.24,312.2^{-1})^{-1}$ (Embrapa 2011).

Para determinação dos teores de P, K, Fe, Mn, Zn foi utilizado o método de extração com solução de Mehlich1, onde misturaram-se 5 g de TFSA e 50 mL da solução extratora em frascos de polipropileno, os quais foram mantidos em mesa agitadora a ± 300 rpm por 15 minutos. Após isto, os frascos permaneceram em repouso por 1 h e logo, o conteúdo foi filtrado em papel filtro e armazenado em frascos de vidro. A leitura do teor de K e de micronutrientes foi diretamente no EAA. O Fe e o Zn foram diluídos 5 x. Para determinação dos teores dos elementos analisados foram utilizadas as fórmulas: K^+ ($cmol_c.Kg^{-1}$) = $[(LAK.D - LABr).Vt.100].(1000.Ps.39,102.1^{-1})^{-1}$; Fe^{2+} ($mg.kg^{-1}$) = $(LAFe .D - LABr). Vt.1000.1000^{-1}.Ps^{-1}$; Zn^{2+} ($mg.kg^{-1}$) = $(LAZn.D - LABr).Vt.1000.1000^{-1}.Ps^{-1}$; e Mn^{2+} ($mg.kg^{-1}$) = $(LAMn.D - LABr).Vt.1000.1000^{-1}.Ps^{-1}$. Para determinação do teor de P, em espectrofotômetro (UV-Visível) a 725 nm, a amostra foi diluída 100 vezes (3,5 mL de cada amostra e 1,5 mL de Mehlich1). Para preparo da curva padrão, 5 mL de soluções de 0, 0,1, 0,3, 0,6, 0,9 e 1,2 μ L de fósforo foi transferido para tubos de ensaio e, adicionou-se 1 mL de molibdato de amônio e de ácido ascórbico 3%. Os valores obtidos foram utilizados na fórmula: P ($mg.kg^{-1}$) = P ($\mu g.mL^{-1}$). $50.0,5^{-1}$; onde P ($\mu g.mL^{-1}$) = (leitura da amostra – interceptação da curva).inclinação da curva $^{-1}$. diluição – previsão da curva (Embrapa, 2011).

Para a determinação do N total utilizou-se o método da digestão sulfúrica, onde 0,5 g de TSFA de cada amostra foi transferido para tubos de digestão e misturado com 5 mL da solução digestora. Os tubos foram mantidos em bloco digestor, por 30 min a 50 °C, 100 °C, aumentado a temperatura gradativamente até 350 °C. O processo de digestão durou 2 h após atingir 350 °C, onde o volume do extrato foi reduzido a 1 mL. Para a destilação, os extratos contidos nos tubos foram transferidos para balões de destilação com água destilada até 50 mL, nestes foram adicionados 15 mL de solução de hidróxido de sódio a 40% e levados ao destilador. Como solução receptora utilizaram-se 10 ml de ácido bórico + indicador misto (vermelho de metila e verde de bromocresol). A destilação foi finalizada quando o volume no Becker atingiu 60 mL de uma solução verde. As amostras foram tituladas com ácido sulfúrico 0,01N até que as amostras apresentassem uma coloração rósea permanente. O volume de ácido sulfúrico consumido foi utilizado na fórmula: Nitrogênio total ($g.kg^{-1}$) = $(Va - Vb).0,01.14,0067.Ps^{-1}$ (Embrapa, 2011).

Para a determinação do C utilizou-se o método Walkley-Black no qual 0,5 g de TFSA de cada amostra, passada em uma peneira de malha de 0,5 mm, foi misturado com 5 mL de dicromato de potássio 1 N e 7,5 mL de H_2SO_4 em Erlenmeyers de 250 mL. Após o

esfriamento, foram adicionados 70 mL de água destilada, 2 mL de ácido fosfórico e três gotas do indicador de ferroína (1,485 g de ferroína monohidratada e 0,695 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em cada Erlenmeyer. Em seguida, procedeu-se a titulação com solução de sulfato ferroso amoniacal 0,2 M até a cor passar de azul para vermelho-marrom. O branco consistiu de 10 mL da solução de dicromato de potássio 1 N. O volume (mL) de sulfato ferroso consumido foi utilizado na fórmula: $\{(V_b - V_a) \cdot N \cdot 0,3133 \cdot ps^{-1}\} \cdot 10$; onde V_b é o volume de sulfato ferroso titulado no branco, V_a é o volume de sulfato ferroso titulado na amostra, ps é a massa da TFSA (g), 1,724 é o fator de van Bemmelen, e N é a normalidade real da solução de sulfato ferroso amoniacal determinada por $(5,01676) \cdot V_b^{-1}$. O teor de matéria orgânica foi calculado usando-se a fórmula: $\text{MO (g.kg}^{-1}) = C (\text{g.kg}^{-1}) \cdot 1,724$ (Embrapa, 1999).

Todas as análises foram realizadas no Laboratório Temático de Solos e Plantas do Campus III do INPA, tanto no primeiro quanto no segundo experimento.

4.5 Avaliação da densidade do inóculo no substrato antes e após a incorporação do material vegetal

A quantificação da população de *S. rolfsii* no substrato foi realizada de acordo com a metodologia modificada de Rodríguez-Kábana *et al.* (1980). Após 20 dias da infestação do substrato dos vasos e antes da incorporação da biomassa das fabáceas, quatro amostras simples (20 g) do substrato de nove vasos com e sem infestação foram coletadas na profundidade de 10 cm com um trado de 1 cm de diâmetro e depois misturadas para formação de duas amostras compostas (com e sem infestação do inóculo no substrato). Ao final do primeiro experimento, foram coletadas quatro amostras simples de 20 g do substrato de um vaso de cada repetição, por tratamento. As amostras simples foram misturadas para formação de uma amostra composta por tratamento, totalizando sete amostras compostas. Todas as amostras foram secas a sombra durante dois dias e passadas em peneira de malha de 2 mm. De cada amostra composta foram retiradas três porções de 25 g que foram distribuídas em três placas de Petri de 12 cm de diâmetro. Sobre o solo contido em cada placa foram vertidos 10 mL de metanol a 1% e, após 48 horas, foi feita a contagem das colônias de *S. rolfsii* com auxílio de estereomicroscópio (S8 APO, Leica, Barra Funda-Brasil) e calculada a média de colônias por grama de solo. Os dados foram transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F e comparação de médias pelo teste Tukey ao nível

de 1 e 5% de probabilidade com auxílio do software ASSISTAT versão 7.7. Esta metodologia também foi aplicada no segundo experimento.

Para ajuste da metodologia de Rodríguez-Kábana *et al.* (1980), foi realizado um teste de forma semelhante ao descrito acima com adição de 30 escleródios (*S. rolfsii*) em 25 g de substrato (solo e esterco de galinha, 2:1), com três repetições. As colônias formadas foram quantificadas e a densidade média de inóculo recuperada foi de 20 escleródios, portanto, eficiência de 66,67% no método de detecção. Considerando a eficiência do método de detecção, em 25 g de substrato há 20 escleródios. Então corrigindo para 100%, em 100 g de substrato haverá 120 escleródios.

4.6 Nova obtenção do isolado de *Sclerotium rolfsii* e produção do inóculo

O isolado de *S. rolfsii* foi cultivado em meio BDA em placas de Petri por dez dias em bancada, sob temperatura de $26\text{ °C} \pm 1$ e fotoperíodo de 12 h. O inóculo foi produzido em arroz de forma semelhante ao descrito para o experimento anterior.

4.7 Coleta e preparação de *Gliricidia sepium* para incorporação ao solo

A incorporação de *G. sepium* ao substrato de cultivo, em quatro doses, foi avaliada no controle da podridão-de-escleródio em cubiu. A coleta das folhas de *G. sepium*, total de 28,800 kg, foi feita no Campus III do INPA com auxílio de podão. A biomassa coletada foi triturada em processador (Master Super, Philips Walita, São Paulo-Brasil) e armazenada à sombra, por dois dias, até a incorporação ao substrato.

4.8 Avaliação da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em solo acrescido com quatro doses de *Gliricidia sepium*

As mudas de cubiu foram preparadas de forma semelhante ao descrito anteriormente, diferindo do uso de bandeja de plástico (50 células) para a semeadura, irrigação manual, e realização em viveiro com cobertura de sombrite (50%) e aberto lateralmente, localizado no Campus III do INPA.

Para o experimento, iniciado em maio de 2017, vasos plásticos de capacidade de 8,7 L foram preenchidos com 6 L de substrato (argissolo: esterco de galinha, 2:1), infestado com 60 g de arroz colonizado com *S. rolfsii* (10 g. L⁻¹ de substrato), em cada vaso. Aos 20 dias da infestação, a população do patógeno foi quantificada e foram incorporadas as folhas de *G. sepium* nas proporções de 240, 480, 720 e 960 g da biomassa fresca triturada, em cada vaso, equivalendo, respectivamente a 40, 80, 120 e 160 g de biomassa fresca. L⁻¹ de substrato. Após uma semana deste procedimento, uma muda de cubiu, aos 72 dias da semeadura foi transplantada para o substrato, em cada vaso. Os vasos permaneceram em viveiro no Campus III do INPA com irrigação manual duas vezes ao dia (Figura 2).



Figura 2. Viveiro utilizado para avaliação da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido de *Gliricidia sepium*. Manaus, INPA, 2017.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos (quatro doses de biomassa de *G. sepium* e duas testemunhas) (Tabela 3), com três repetições e quatro plantas por repetição, totalizando 18 parcelas e 72 vasos. Nas duas testemunhas não houve incorporação de biomassa da *G. sepium* ao substrato dos vasos e, em uma delas, houve duas aplicações de fungicida sistêmico (Viper 700[®], tiofanato metílico, Iharabras S.A. Indústrias Químicas, Sorocaba-Brasil) nas plantas de cubiu na concentração de 70 g (p.c.) por 100 L de água. O fungicida foi aplicado na proporção de 9 mL da suspensão por planta, utilizando-se um pulverizador manual, com pulverização direcionada para o colo da planta. A primeira aplicação foi um dia após o transplante e a segunda aos 50 dias após o transplante (pré-florada). Os dados da AACPD foram transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$ e submetidos à

análise de regressão ao nível de 1% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software ASSISTAT versão 7.7. Ao final do experimento, foi quantificada a população do patógeno no substrato dos vasos.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido de quatro espécies de fabáceas

A incidência da doença nos tratamentos com incorporação de todas as espécies de fabáceas foi similar ao tratamento com fungicida, exceto no tratamento com *E. fusca* que teve maior incidência da doença, o qual foi similar ao tratamento com solo infestado (Figura 3).

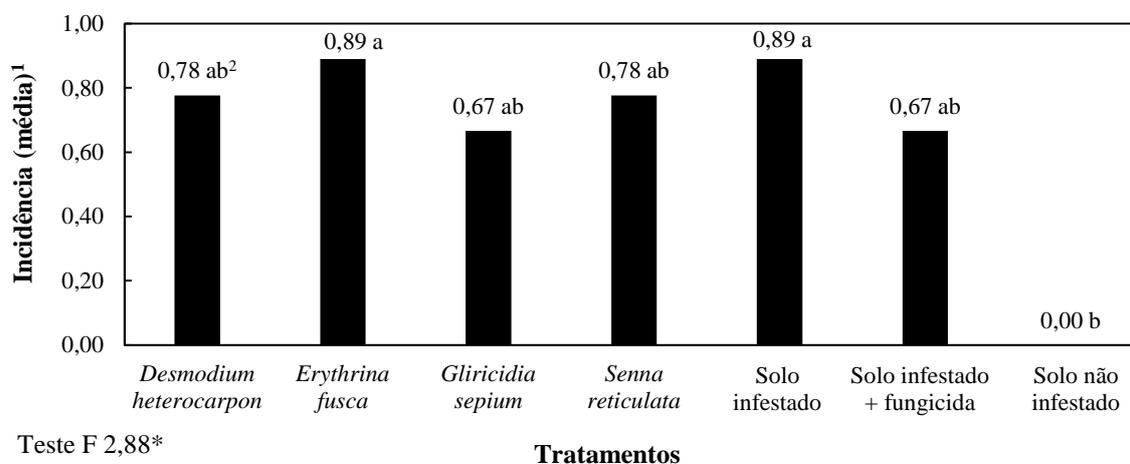


Figura 3. Incidência média da podridão-de-escleródio em cubiu aos 133 dias após o transplante, cultivado em substrato infestado com *S. rolfsii* na proporção de 120 UFC. 100 g de substrato⁻¹ e acrescido de fabáceas ou fungicida (Viper 700[®], 70 g de p.c.100. L⁻¹ de água, duas aplicações de 9 mL.planta⁻¹). Manaus, INPA, 2017.

¹ Incidência da doença média de três repetições com três plantas de cubiu por repetição.

² Médias seguidas pelas mesmas letras sobre as barras não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05); CV% = 15,48.

Sete dias após o transplante das mudas de cubiu, os sintomas da podridão-de-escleródio puderam ser observados em 44,44% das plantas no substrato com incorporação de *E. fusca*. Aos 56 dias, 11,11% das plantas nos tratamentos com *G. sepium* e *S. reticulata* apresentaram sintomas. No substrato acrescido com *D. heretocarpon* as primeiras plantas com

sintomas foram observadas aos 91 dias. Nesta data (91 dias), 22,22% das plantas cultivadas no substrato infestado, e 33,33% das plantas cultivadas no substrato infestado e tratadas com fungicida apresentavam sintomas da doença. Aos 133 dias, última avaliação do experimento, a incidência da podridão-de-escleródio no tratamento onde foi incorporada *E. fusca* e solo infestado, sem a incorporação de leguminosas, apresentaram a maior porcentagem de plantas doentes, 88,89%. Nos tratamentos com *D. heterocarpon* e *S. reticulata* a porcentagem de plantas doentes no final do experimento foi de 77,78%. Nas plantas cultivadas em substrato que recebeu *G. sepium* a porcentagem de plantas doentes no final do experimento e das plantas tratadas com fungicida foi de 66,67% (Figura 4).

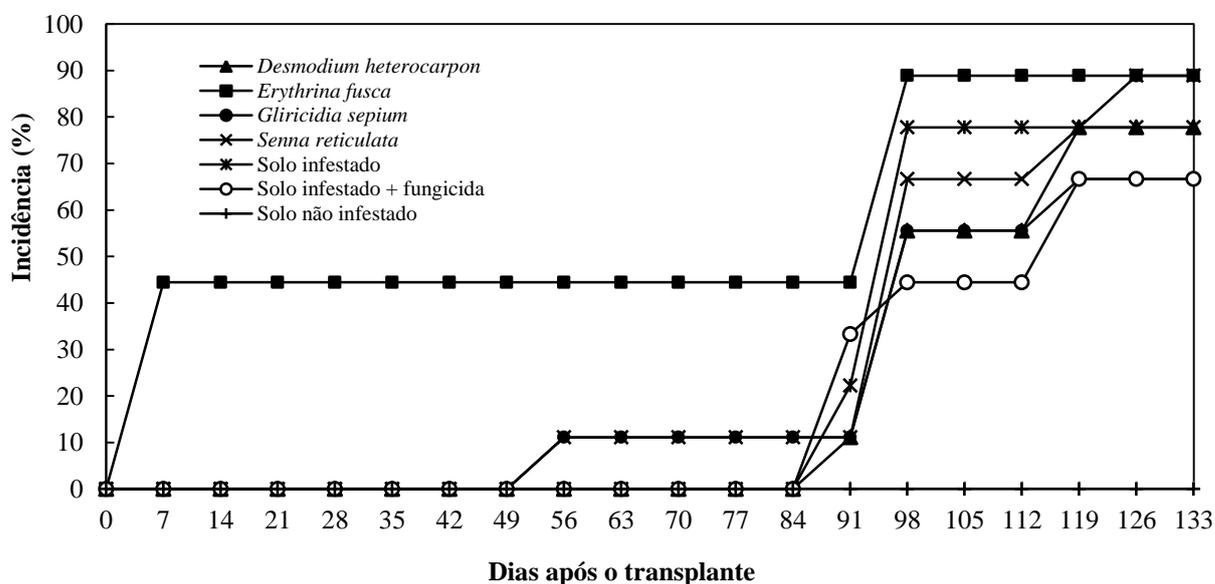


Figura 4. Curvas de progresso da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato infestado com 10 g de arroz colonizado por *Sclerotium rolfsii*.L⁻¹ de substrato, acrescido de 40 g.L⁻¹ de folhas de quatro espécies de fabáceas, plantas tratadas com fungicida (Viper 700[®], tiofanato metílico, 70 g de p.c.100. L⁻¹ de água, e duas pulverizações de 9 mL.planta⁻¹, com intervalo de 50 dias) e plantas cultivadas em solo não infestado, durante 133 dias. Manaus, INPA, 2017.

Os valores das áreas abaixo das curvas de progresso da doença (AACPD) das plantas dos tratamentos onde se incorporaram *D. heterocarpon* e *G. sepium*, foram inferiores aos das outras fabáceas e similares ao do tratamento onde as plantas foram tratadas com fungicida (Figura 5).

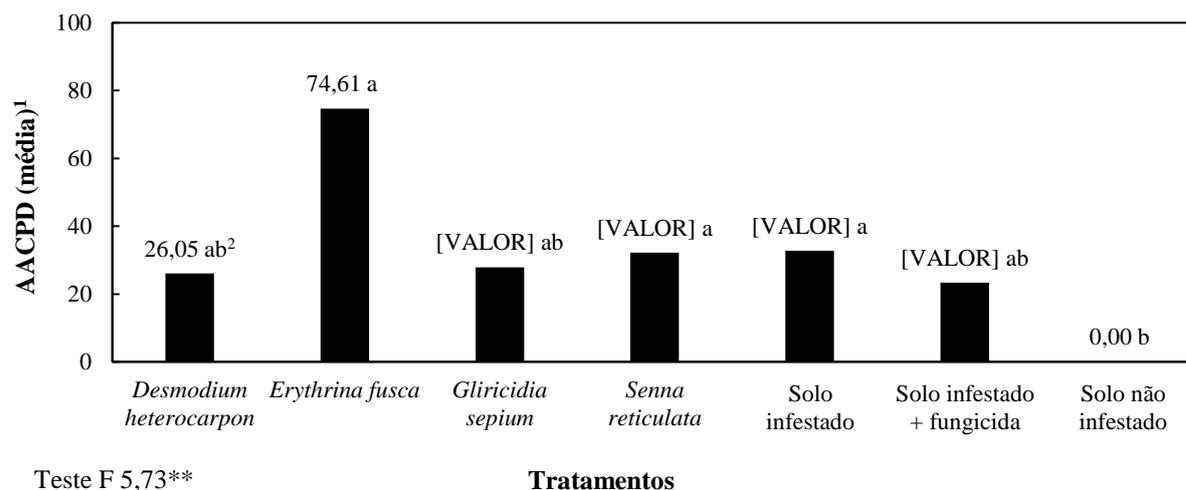


Figura 5. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da podridão-de-escleródio em plantas de cubiu cultivadas em solo infestado com *Sclerotium rolfsii* (120 UFC.100 g de solo), acrescido ou não de folhas de fabáceas trituradas (40 g.L⁻¹ de solo) ou pulverizadas com fungicida Viper 700[®] (70 g de p.c.100 L⁻¹ de água, duas aplicações de 9 mL.planta⁻¹). Manaus, INPA, 2017.

¹ AACPD média de três repetições com três plantas de cubiu por repetição.

² Médias seguidas pelas mesmas letras sobre as barras não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey, ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01); CV% = 33,99.

5.2 Análise química das fabáceas e do substrato de cultivo antes e após 140 dias da incorporação do material vegetal

Na Figura 6, observa-se que os teores de lignina foram similares entre as espécies, variando de 26,83%, em *E. fusca* a 24,83% em *D. heterocarpon*. *Gliricidia sepium* apresentou teores de lignina ligeiramente inferiores (19,8%). Os teores de celulose também foram similares entre as espécies, 20,46% em *G. sepium* a 28,95% em *E. fusca*. *Desmodium heterocarpon*, no entanto, apresentou teor de celulose 41,27%, 37,77% maior que a média das outras espécies. E na Figura 7, os teores de polifenóis foram similares entre as espécies.

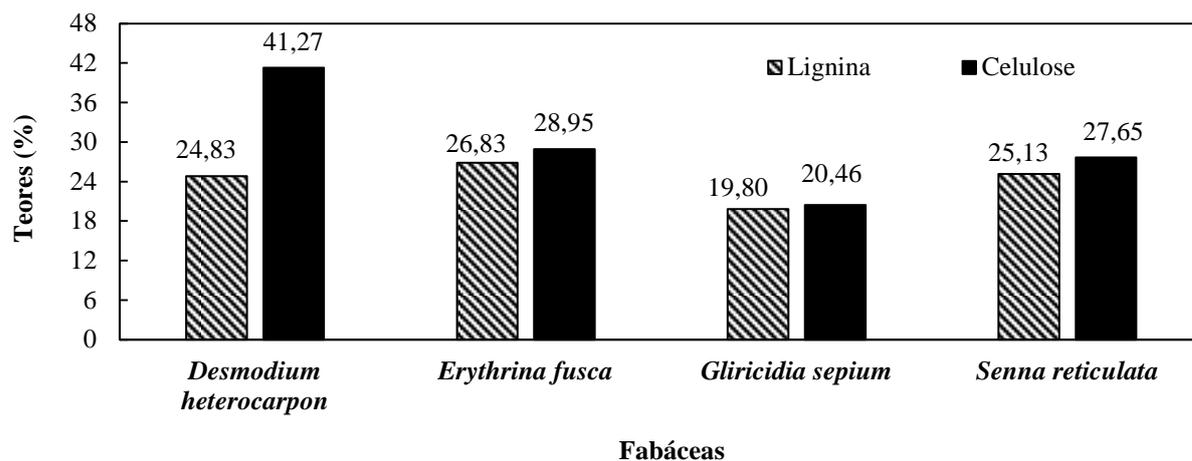


Figura 6. Teores de lignina, celulose e polifenóis nas fabáceas incorporadas ao solo para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.

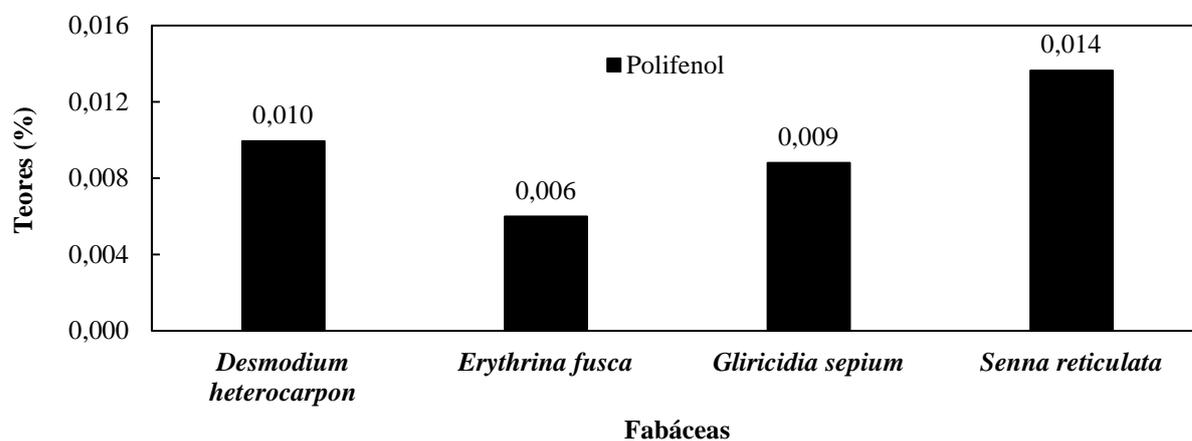


Figura 7. Teores de polifenóis (%) nas fabáceas incorporadas ao solo para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.

Observam-se, na Tabela 4, elevados teores de ferro (Malavolta *et al.*, 1997; Silva, 1999) nas espécies vegetais estudadas. Em *E. fusca*, destaca-se o teor de ferro e em *G. sepium*, de zinco, potássio e cálcio. Em *S. reticulata* destacam-se os teores de fósforo e manganês.

Tabela 3. Teores de nutrientes em folhas e galhos de fabáceas incorporadas ao solo para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.

Espécie	P	Fe mg kg ⁻¹	Zn	Mn	Mg	K	Ca	N g kg ⁻¹	C	M. O. ¹
<i>Desmodium heterocarpon</i>	111,10	25,70	22,00	16,50	2,16	5,22	7,01	21,54	47,11	81,03
<i>Erythrina fusca</i>	141,87	128,40	14,00	12,10	2,92	3,94	16,75	24,12	45,96	79,05
<i>Gliricidia sepium</i>	163,94	22,60	25,00	12,00	2,78	10,04	27,11	35,06	43,66	75,10
<i>Senna reticulata</i>	296,38	110,30	20,00	36,00	2,72	6,96	24,35	34,82	46,34	79,71

¹M. O. = Matéria orgânica.

Tabela 4. Teores de nutrientes e pH no substrato antes e após 140 dias da incorporação das fabáceas para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.

Tratamentos	pH (H ₂ O)	Al	Mg cmol _c kg ⁻¹	K cmol _c kg ⁻¹	Ca	P	Fe mg kg ⁻¹	Zn	Mn	N	C g kg ⁻¹	M. O. ¹
Inóculo + <i>D. heterocarpon</i>	7,33	0,00	0,34	0,09	3,16	70,73	52,50	17,00	18,50	0,95	11,23	19,35
Inóculo + <i>E. fusca</i>	7,21	0,00	0,43	0,13	3,83	88,55	50,50	17,70	20,90	1,18	15,68	27,04
Inóculo + <i>G. sepium</i>	7,64	0,00	0,64	0,14	3,48	203,52	26,50	10,40	32,90	1,31	11,53	19,88
Inóculo + <i>S. reticulata</i>	7,47	0,00	0,58	0,11	3,65	191,41	28,00	6,90	31,80	1,34	12,61	21,74
Inóculo	7,40	0,00	0,41	0,10	3,56	104,94	46,00	3,40	21,00	1,12	10,76	18,56
Inóculo + fungicida	7,38	0,00	0,33	0,12	3,55	108,14	45,50	3,40	22,50	1,23	11,23	19,35
Sem inóculo	7,32	0,00	0,38	0,08	2,85	40,45	60,50	16,00	13,10	0,79	13,69	23,59
Substrato original	8,23	0,00	0,34	0,41	3,02	60,88	11,00	2,20	10,0	3,53	5,78	9,87

¹M. O. = Matéria orgânica.

O pH variou pouco no substrato aos 140 dias após a incorporação das leguminosas, constatando-se uma alcalinidade fraca (7,1-7,8). Os teores de fósforo e ferro no substrato de todos os tratamentos são considerados altos, assim como os teores de Zn e Mn e de matéria orgânica (Lopes e Guilherme, 2004). Os tratamentos com *D. heterocarpon*, *E. fusca*, e os sem incorporação de fabáceas apresentaram baixos teores de Mg (Lopes e Guilherme 2004). Para o tratamento com *D. heterocarpon*, *S. reticulata* e os sem incorporação de fabáceas, os teores de K foram baixos. O substrato do tratamento com incorporação de *G. sepium* e de *S. reticulata* apresentaram teores médios de Mg (Lopes e Guilherme 2004). Os teores de todos os nutrientes, exceto o potássio e nitrogênio foram mais elevados nos tratamentos em que foram incorporadas as fabáceas (Tabela 5).

5.3 Avaliação da densidade do inóculo no substrato antes e 140 dias após a incorporação do material vegetal

Após 20 dias da infestação do substrato com *S. rolfsii*, a população foi em média de 15 escleródios por 25 g de substrato ou 60 escleródios por 100 g de substrato, considerando a eficiência de 66,67% do método de detecção usado. Então corrigindo para 100%, em 100 g de substrato haverá 90 escleródios. No substrato sem infestação, a população de *S. rolfsii* foi zero.

Os tratamentos com incorporação de fabáceas, as testemunhas sem incorporação de fabáceas ou com tratamento das plantas com fungicida não diferiram estatisticamente no número de escleródios viáveis por 100 g de substrato (Figura 8), considerando a eficiência de 66,67% do método de detecção usado.

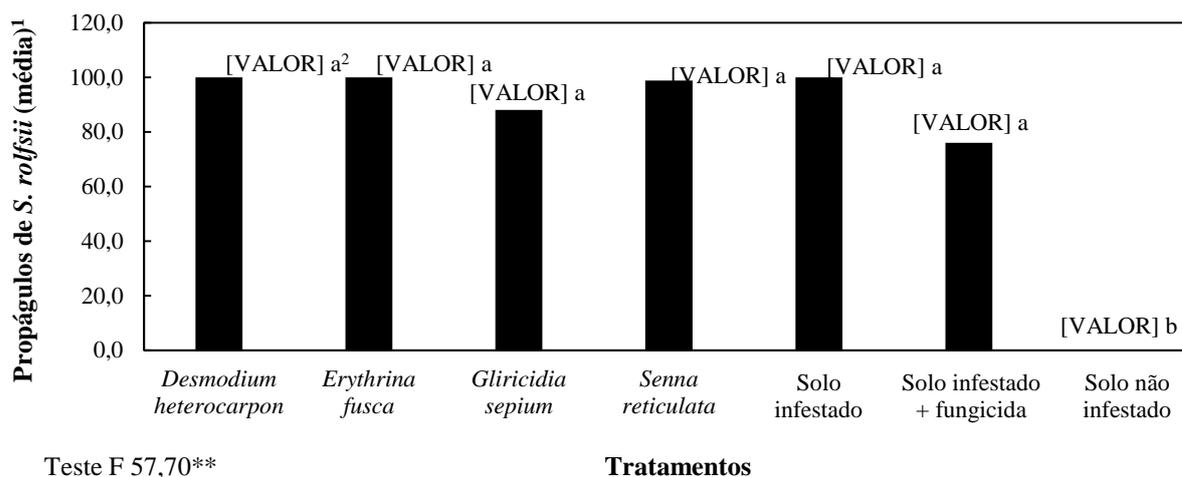


Figura 8. Número médio de propágulos de *Sclerotium rolfsii* em 100 g de substrato nos tratamentos avaliados para controle da podridão-de-escleródio em cubiu, 133 dias após o transplante. Manaus, INPA, 2017.

¹ Densidade média de colônias de *S. rolfsii* em três repetições.

² Médias seguidas pelas mesmas letras sobre as barras não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$); CV% = 8,49.

5.4 Avaliação da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato acrescido com quatro doses de *Gliricidia sepium*

A relação entre doses de *G. sepium* e incidência da doença observadas na análise de regressão linear foram significativas ($P \leq 0,01$). A incidência de podridão-de-escleródio nas plantas de cubiu foi reduzida com o aumento da quantidade de folhas de *G. sepium* incorporadas ao substrato. As plantas dos tratamentos com incorporação de 80, 120 e 160 g de folhas de *G. sepium*. L⁻¹ substrato apresentaram incidência de podridão-de-escleródio de 17, 8 e 0%, respectivamente. A partir da dose de 139 g de *G. sepium* a incidência da doença é 0%. O tratamento sem incorporação de *G. sepium* apresentou 100% de incidência (Figura 9).

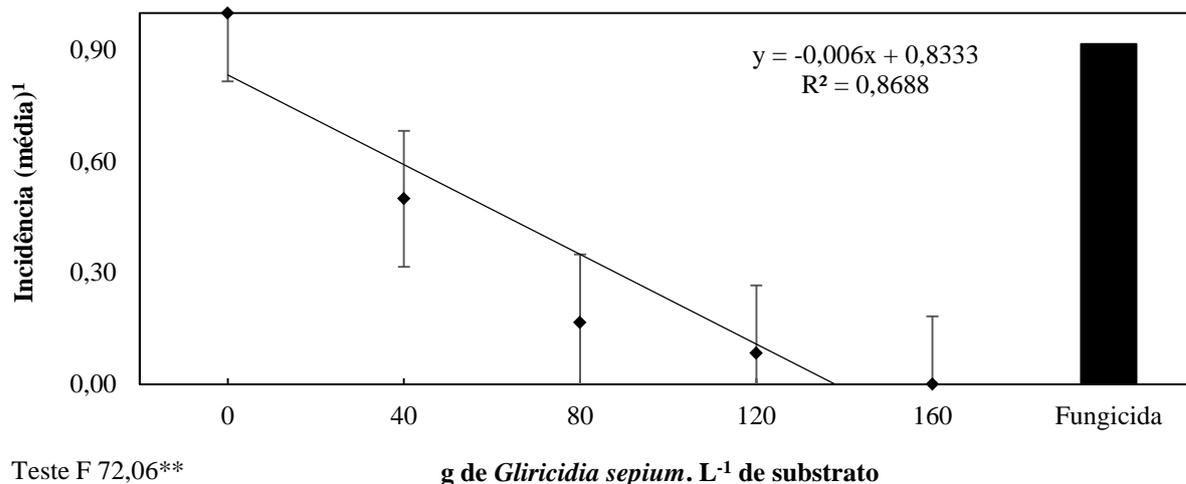


Figura 9. Relação entre doses de *G. sepium*, incorporada ao substrato, e incidência média da podridão-de-escleródio em cubiu, aos 77 dias após o transplante. Manaus, INPA, 2017.

¹ Média da incidência da doença correspondente a três repetições com quatro plantas de cubiu por repetição, significativa ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$); CV% = 8,97.

Aos 63 dias do transplante se observou 8,33% de incidência de podridão-de-escleródio nas plantas do tratamento sem incorporação de *G. sepium* e com aplicação de fungicida. Aos 70 dias do transplante, plantas em todos os tratamentos, exceto as do que foram incorporadas 160 g de *G. sepium*. L⁻¹ de substrato apresentavam sintomas da doença. As plantas do tratamento desse tratamento não apresentaram sintomas da podridão-de-escleródio até o final do experimento (77 dias do transplante) (Figura 10).

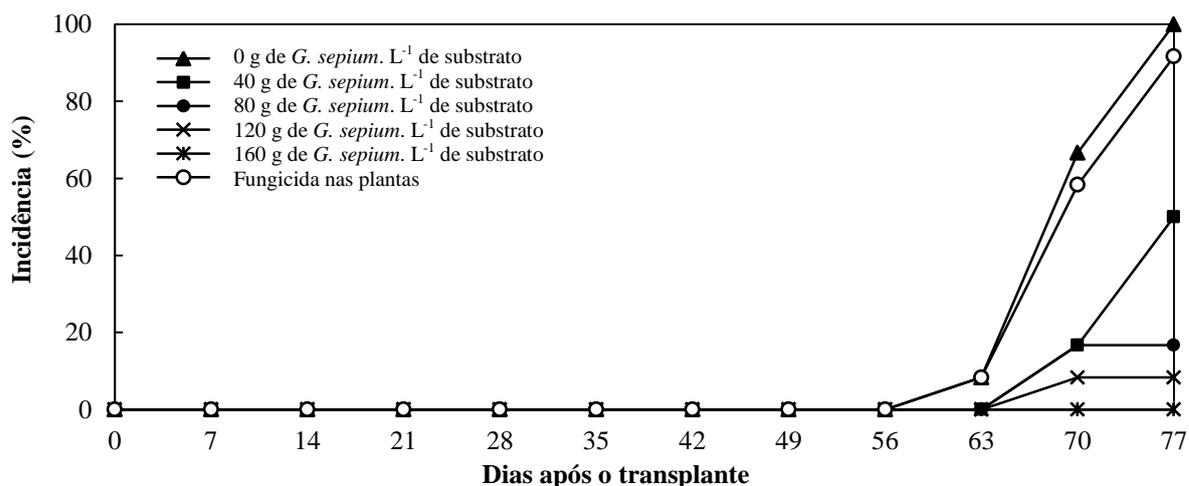


Figura 10. Curvas de progresso da incidência da podridão-de-escleródio em cubiu cultivado em substrato infestado com *Sclerotium rolfsii* e acrescido de quatro doses de *Gliricidia sepium* ou tratado com fungicida. Manaus, INPA, 2017.

A relação entre doses de *G. sepium* e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) observadas na análise de regressão linear foram significativas ($P \leq 0,01$). A redução da incidência da podridão-de-escleródio foi proporcional ao aumento da dose de *G. sepium* incorporada ao substrato (Figura 11).

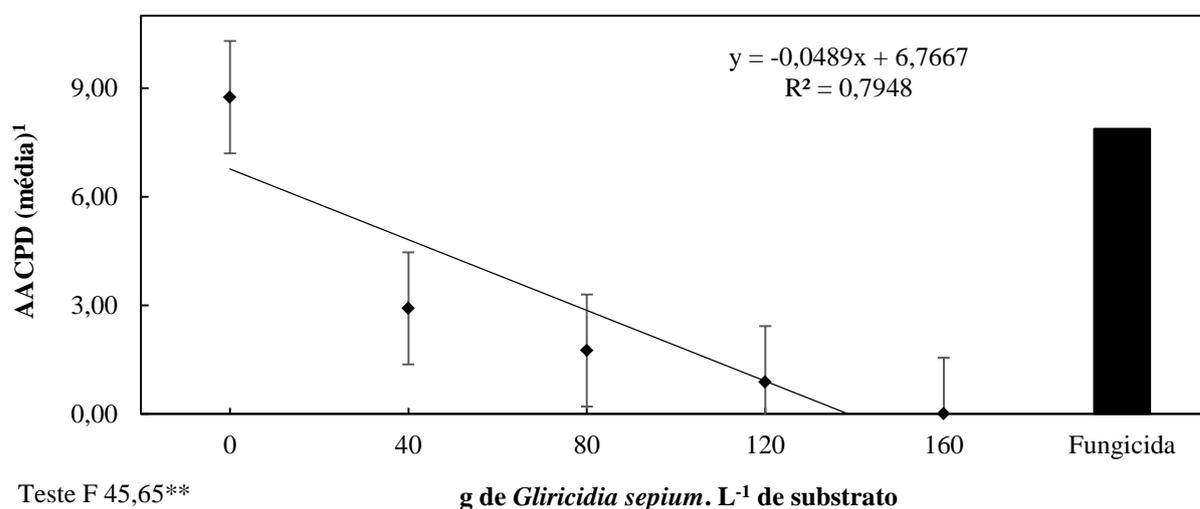


Figura 11. Relação entre doses de *G. sepium*, incorporada ao substrato, e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.
¹ Média da área abaixo da curva de progresso da doença correspondente a três repetições com quatro plantas de cubiu por repetição, significativa ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$); CV% = 27,24.

5.5 Análise química do substrato antes e 84 dias após a incorporação de diferentes doses de *Gliricidia sepium*

O pH do substrato 84 dias após a incorporação de *G. sepium* variou pouco entre os tratamentos, constatando-se uma alcalinidade fraca (7,3-7,6), que se relaciona a ausência do alumínio trocável. Os teores de P, Fe, Zn e Mn, assim como de matéria orgânica, foram altos em todos os tratamentos. O teor de Ca foi mediano e os de Mg e K, baixos (Lopes e Guilherme 2004) para todos os tratamentos. Os teores de todos os nutrientes, exceto o K e Mn foram mais elevados nos tratamentos com incorporação de *G. sepium* (Tabela 6).

Tabela 5. Teores de nutrientes e pH no substrato antes e 84 dias após a incorporação de quatro doses de *Gliricidia sepium* para controle da podridão-de-escleródio em cubiu. Manaus, INPA, 2017.

Tratamentos	pH (H₂O)	Al	Mg	K	Ca	P	Fe	Zn	Mn	N	C	M. O.¹
			cmol _c kg ⁻¹				mg kg ⁻¹				g kg ⁻¹	
0 g de <i>G. sepium</i> . L ⁻¹ de substrato	7,54	0,00	0,54	0,09	4,30	102,41	70,50	21,50	29,00	1,16	11,56	19,93
40 g de <i>G. sepium</i> . L ⁻¹ de substrato	7,65	0,00	1,05	0,08	4,91	133,94	72,00	21,50	28,50	1,37	14,13	24,36
80 g de <i>G. sepium</i> . L ⁻¹ de substrato	7,51	0,00	0,79	0,10	4,66	130,48	52,50	28,50	34,00	1,14	14,13	24,36
120 g de <i>G. sepium</i> . L ⁻¹ de substrato	7,62	0,00	0,85	0,12	4,59	131,86	63,00	26,00	32,00	1,26	15,09	26,02
160 g de <i>G. sepium</i> . L ⁻¹ de substrato	7,65	0,00	0,58	0,11	4,98	179,48	66,00	24,00	29,50	1,21	15,25	26,30
0 g de <i>G. sepium</i> + fungicida	7,62	0,00	0,64	0,10	4,16	119,04	78,50	23,50	30,00	1,08	13,65	23,53
Substrato original	7,39	0,00	1,43	0,24	4,03	89,39	69,0	19,0	26,5	1,00	13,17	22,70

¹M. O. = Matéria orgânica.

5.6 Avaliação da densidade do inóculo no substrato antes e 84 dias após a incorporação de diferentes doses de *Gliricidia sepium*

Foi realizada quantificação da população de *S. rolfsii* 20 dias após a infestação do substrato e ao final do experimento. No início do experimento, a população média de propágulos no substrato foi de 13,33 UFC. 25 g de substrato⁻¹ ou 53,32 UFC. 100 g de substrato⁻¹, considerando a eficiência de 66,67% do método de detecção usado. Então corrigindo para 100%, em 100 g de substrato haverão 80 escleródios.

A relação entre doses de *G. sepium* e número de propágulos de *S. rolfsii* observadas na análise de regressão linear foram significativas ($P \leq 0,01$). Aos 77 dias do transplante verificou-se uma redução na população de propágulos de *S. rolfsii* de 20% com a incorporação de 142 g de *G. sepium*.L⁻¹ de substrato (42,65 UFC.100 g de substrato⁻¹ em 66,67% de detecção, e corrigindo para 100%, 64 UFC.100 g de substrato⁻¹) em comparação à população no início do experimento. E redução de 52,5% no tratamento com incorporação 160 g de *G. sepium*. L⁻¹ de substrato (28 UFC.100 g de substrato⁻¹ em 66,67% de detecção, e corrigindo para 100%, 42 UFC.100 g de substrato⁻¹) (Figura 12).

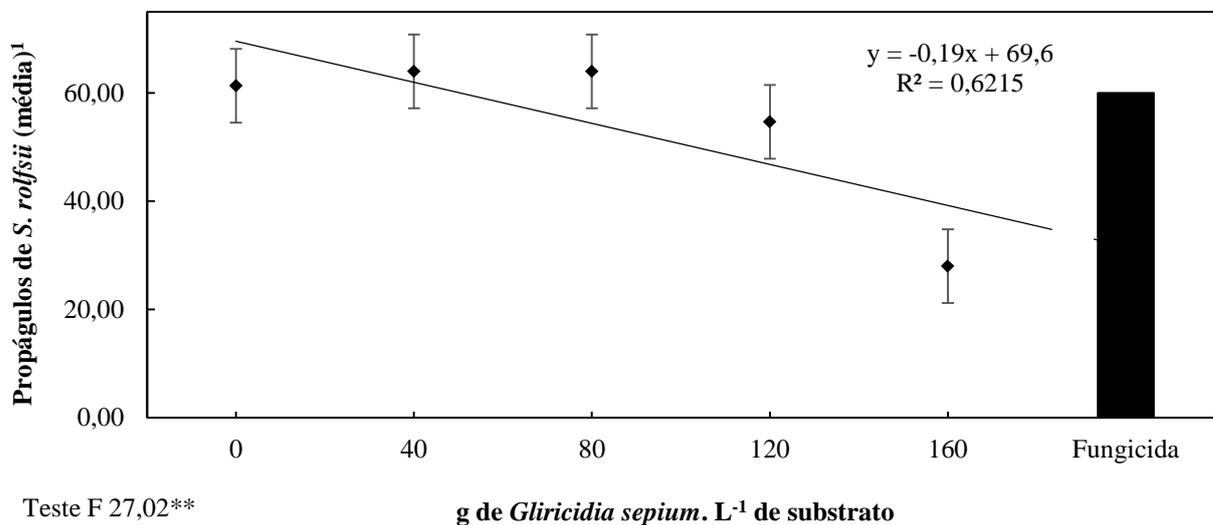


Figura 12. Relação entre doses de *G. sepium*, incorporada ao substrato, e número de propágulos de *S. rolfsii* em 100 g de substrato, 77 dias após o transplante das mudas de cubiu. Manaus, INPA, 2017.

¹ Média de colônias de *S. rolfsii* em três repetições, significava ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$); CV% = 7,93

6 DISCUSSÃO

Há diversos relatos sobre os efeitos benéficos da adubação verde com leguminosas para o aumento da produção em cultivos. Dentre estes efeitos pode-se citar o aumento no teor de matéria orgânica e de nitrogênio, aumento da ciclagem de nutrientes e o controle de pragas e doenças (Tomazeli *et al.*, 2011; Souza, 2012).

As plantas do gênero *Erythrina* são ricas em alcalóides e flavonóides e apresentam atividade antifúngica (Chacha *et al.*, 2005). As plantas de cubiu cultivadas em substrato ao qual se adicionaram folhas de *E. fusca*, no entanto, apresentaram a mais alta incidência de podridão-de-escleródio, quando comparadas às plantas dos demais tratamentos (Figura 3). A incorporação dessa espécie ao substrato contribuiu para o aumento dos teores de todos os nutrientes analisados e da matéria orgânica, no substrato (Tabela 5).

A velocidade da decomposição do material vegetal é inversamente proporcional ao teor de lignina. Teores acima de 30%, ocasionam decomposição lenta (Souza, 2012). As espécies *D. heterocarpum*, *E. fusca* e *S. reticulata* apresentaram teores de lignina próximos, com média de 25,6% (Figura 6). *Gliricidia sepium* apresentou teor um pouco mais baixo (19,8%). Como o tempo do experimento foi de apenas 133 dias e o teor de lignina nas espécies incorporadas, era relativamente alto, mesmo as plantas de cubiu cultivadas no substrato ao qual se adicionou *E. fusca* ou *S. reticulata*, espécies com conhecida atividade antifúngica (Chacha *et al.*, 2005; Herforth, 2002). Não se observaram diferenças desses tratamentos, com relação à redução na incidência da podridão-de-escleródio, em relação aos demais. As plantas de cubiu do tratamento com *D. heterocarpon* foram as que apresentaram mais tardiamente, sintomas da doença, aos 91 dias após o transplante (Figura 4). Não se encontraram relatos sobre o uso *E. fusca*, *S. reticulata* e *D. heterocarpon* incorporadas ao solo para o controle da podridão-de-escleródio.

Torrealba (2006) observou inibição de 50% do crescimento micelial e da produção de escleródios de *S. rolfsii in vitro* com adição de extrato etanólico de *G. sepium* ao meio de cultura. Urdaneta *et al.* (2013) mencionam fenóis, alcaloides, flavonoides, saponinas e óleos essenciais como constituintes dos metabólitos secundários de *G. sepium*. A incidência da podridão-de-escleródio nas plantas dos tratamentos com incorporação de leguminosas ou com o tratamento com fungicida foram similares (Figuras 3 e 5), o que indica que a incorporação

de leguminosas ao solo pode ser uma alternativa viável no controle da doença. *G.liricidia sepium* na Amazônia, submetida a manejo de poda, produz cerca de 5,67 t.ha⁻¹.ano (Souza e Picanço, 2008). Considerando o tratamento com maior volume de incorporação de *G. sepium*, 160 g.L⁻¹, a produção em 1 ha dessa espécie, possibilitaria quase 18 aplicações por ano, em uma área de produção de cubiu de 1 ha. *Erythrina fusca*, sob manejo de poda, produz 3,4 t.ha⁻¹ ano (Teixeira *et al.*, 2010), *D. heterocarpon*, 12 t.ha⁻¹ ano (Russo e Baguion, 1997), possibilitando 11 e 38 aplicações por ano, por hectare, respectivamente, se forem incorporadas as quantidades avaliadas neste trabalho. Assim, a produção anual de 1 ha das leguminosas *G. sepium*, *E. fusca*, *D. heterocarpon*, sob manejo de poda, é mais do que suficiente para fornecer material vegetal para incorporação em uma área de 1 ha de cultivo de cubiu.

Dependendo das condições edafoclimáticas, dos teores de lignina, de polifenóis, de celulose, dentre outros componentes, a velocidade de decomposição de resíduos vegetais pode variar (Silva e Souza 2013). Os resíduos vegetais com reduzidos teores de lignina e de polifenóis apresentam rápida mineralização e fornecem grandes quantidades de nutrientes para os cultivos. Já os resíduos com teores de lignina e polifenóis altos, acima de 30% (Silva e Souza 2013), sofrem uma decomposição mais lenta, e os nutrientes são também liberados de forma lenta para os cultivos.

A lignina é o principal componente que determina a velocidade de decomposição dos resíduos vegetais (Montemeyer, 1978). O seu conteúdo aumenta com a senescência da planta e proporcionalmente durante a decomposição dos resíduos, podendo variar de 5 a 40% (Constantinides e Fownes, 1994). Moreira e Siqueira (2002) ressaltam que a matéria orgânica com teor de lignina acima de 30% se torna praticamente inviável para adubação verde, já que sua decomposição não ocorrerá a tempo de atender às necessidades nutricionais da cultura. Teor de lignina acima de 30% é considerado alto e de celulose entre 10 e 30%, intermediário (Silva e Souza 2013). Todas as espécies de fabáceas avaliadas para incorporação ao substrato tinham teores de lignina e de celulose abaixo de 30%, com exceção de *D. heterocarpon* que apresentou teor de celulose de 41,27% (Figura 6). Em todas as espécies, os teores de polifenóis foram baixos (Figura 7), e segundo Silva e Souza (2013) teores de polifenóis acima de 3% são considerados altos e a espécie, inviável para adubação verde.

Debode *et al.* (2005) relatam que a lignina do pinheiro (*Pinus sylvestris* L.) tem potencial de redução da viabilidade de escleródios de *Verticillium longisporum* (C.Stark) Karapapa, Bainbr. & Heale (1997). Compostos fenólicos participam dos mecanismos de defesa das plantas, proporcionando resistência a fitopatógenos (Nicholson e Hammerschmidt

1992). Em grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) observou-se redução na incidência de podridão-de-esclerócio (*S. rolf sii*), por resistência sistêmica induzida (RIS) pela síntese de compostos fenólicos na hospedeira pela presença, no substrato, de rizobactérias favoráveis ao crescimento das plantas, conhecidas como PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) (Sarma *et al.* 2002). Sarma e Singh (2003) observaram redução do crescimento micelial de *S. rolf sii* pela ação de ácido ferúlico. Esse composto fenólico está presente na parede celular de várias espécies vegetais como café, maçã, laranja, abacaxi e tomate e, principalmente, em cereais, como arroz, aveia e milho (Lin *et al.*, 2003).

A adição de fabáceas proporcionou incremento nos teores de nutrientes do substrato. A incorporação de *D. heterocarpon* contribuiu com o incremento dos teores de cálcio, fósforo e manganês. A incorporação de *E. fusca* contribuiu com o aumento nos teores de cálcio, fósforo, zinco e manganês e de *G. sepium*, principalmente com os teores de fósforo, potássio, magnésio e manganês (Tabela 5). Com o aumento da quantidade incorporada de *G. sepium*, ao substrato, observaram-se aumentos proporcionais nos teores de fósforo, potássio, carbono e matéria orgânica no substrato, após 84 dias da incorporação (Tabela 6).

Em relação ao pH, Shim e Starr (1997) verificaram que a germinação de escleródios é maior em solos ácidos do que em solos alcalinos. Em substrato com pH 5,6 (ácido) a incidência da podridão-de-escleródio em amendoim (*Arachis hypogaea* L.) foi a mais elevada do que em substratos com pH 8,7 e 9,8. O pH alcalino é atípico para um solo da Amazônia. Nesta pesquisa, porém, o pH do substrato utilizado tanto antes quanto depois da incorporação das fabáceas foi alcalino (média de 7,5). Essa alcalinidade, provavelmente se deve ao fato do solo ser oriundo de uma antiga área experimental que recebeu repetidas correções com calcário que contribuíram para o incremento do pH.

O teor de Ca nos tecidos das plantas foi correlacionado com a resistência às doenças causadas por *Pectobacterium carotovorum* (Jones) Waldee, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Pythium myriotylum* Drechsler, *Rhizoctonia solani* Kühn e *S. rolf sii*, pelo aumento da integridade estrutural e resistência das células vegetais (Huber e Haneklaus, 2007). Manganês e outros micronutrientes também estão envolvidos nos mecanismos de defesa das plantas (Huber e Haneklaus, 2007). Segundo Agrios (1997), adubos a base de amônio aumentam a incidência e a severidade da podridão-de-escleródio nos cultivos.

O teor de potássio no substrato aumenta a resistência das plantas às doenças. O K contribui no aumento da espessura da parede celular, proporcionando maior rigidez nos tecidos e promovendo a rápida recuperação de injúrias (Basseto *et al.*, 2007). O teor de K foi mais elevado no substrato original do que após o cultivo do cubiu, no final do experimento

provavelmente pela pequena contribuição de K pelas fabáceas incorporadas ao substrato e pela exigência da cultura por este nutriente.

O tipo de material orgânico incorporado ao substrato, a relação carbono:nitrogênio e o nível de decomposição afetam a resposta da planta ao ataque de patógenos (Hasna *et al.*, 2007). Segundo Davet (2004) teores elevados de C associados à baixos teores de N livre no substrato têm levado à supressão das doenças envolvendo a incorporação de material orgânico. No experimento, a incorporação das fabáceas contribuiu com o incremento no teor de carbono comparado com os teores do substrato original.

A matéria orgânica melhora a fertilidade do substrato e, na maioria das vezes, a resistência das plantas às doenças. Termorshuizen *et al.* (2007) verificaram que a doença foi suprimida em 54% dos trabalhos onde se estudou o efeito da adição de resíduos vegetais ao substrato. Em 42,7% dos estudos, não houve efeito da adição de resíduos vegetais na ocorrência de doenças e em apenas 3,3% a incidência da doença foi aumentada. Também Bonanomi *et al.* (2007), revisando 1.964 estudos sobre a adição de resíduos ao substrato para o controle de doenças, verificaram que em 45% dos estudos, a adição de matéria orgânica reduziu a ocorrência de doenças, em 35% dos estudos não houve efeito e em 20% dos estudos a incidência da doença foi aumentada. Para Nava-Juares *et al.* (2005), aumentos nas doses de nitrogênio reduziram a população de escleródios de *S. rolfsii* e o número de bulbos de cebola com sintomas da podridão-de-escleródio. Tomazeli *et al.* (2011), verificaram redução na incidência e na severidade da podridão-de-escleródio, 25,48 e 3,98%, respectivamente, utilizando cama de aviário como adubo orgânico. Assim como também verificaram redução de 34,81% no número de escleródios de *S. rolfsii* em substrato, utilizando o mesmo adubo orgânico.

A redução da incidência da podridão-de-escleródios nas plantas de cubiu (Figuras 9 e 11) e da densidade de propágulos de *S. rolfsii* no substrato (Figura 12) pode ter ocorrido pelo aumento da matéria orgânica, a qual, segundo Lazarovitz (2001), pode atuar nos fitopatógenos diretamente pela produção de compostos químicos, como ácidos graxos voláteis, ácido nitroso, amônia e isotiocianatos, ou indiretamente favorecendo o aumento da população dos antagonistas tendo assim um efeito indireto na relação patógeno-hospedeira. Segundo Viana e Souza (2000), a liberação de metabólitos dos resíduos pode tanto suprimir a população de microrganismos patogênicos, como incrementar a população de antagonistas.

De acordo com Costa *et al.* (2001), após a decomposição de resíduos orgânicos, principalmente adubos verdes provenientes de leguminosas incorporadas ao substrato, ocorre a liberação de substâncias bioativas (compostos fenólicos, alcalóides etc.) com efeito

inibitório a microrganismos. Diversas espécies de plantas contêm, na parte aérea, compostos nematicidas, bactericidas e fungicidas pré-formados, como alcalóides, ácidos graxos, isotiocianatos, glicosídeos acianogênicos, terpenóides e compostos fenólicos, que podem contribuir para o controle de fitopatógenos após a incorporação ao substrato (Rodríguez-Kábana *et al.* 1994). *Senna reticulata* possui antraquinonas, terpenos e flavonoides em sua composição foliar (Santos *et al.*, 2008) e *E. fusca*, alcaloides tóxicos (Álvarez *et al.*, 1997). As plantas do tratamento com incorporação de *E. fusca* apresentaram incidência de podridão-de-escleródio de 89% no final do experimento e, aos sete dias após o transplante das mudas para esse tratamento, observaram-se plantas com sintomas. As plantas do tratamento onde se incorporou *S. reticulata* apresentou a mesma incidência no final do experimento, porém as primeiras plantas doentes só foram observadas 56 dias após o transplante.

O controle biológico é uma técnica popular de manejo de doenças proporcionado por microrganismos habitantes do solo ou introduzidos. Fungos como o *Trichoderma harzianum* Rifai, *T. viride* Pers e *T. longibrachiatum* Rifai e fungos micorrízicos, além de bactérias como *Pseudomonas fluorescens* (Flügge) Migula e *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn são antagonistas conhecidos de *S. rolfsii* e de outros fitopatógenos (Kumar *et al.*, 2013). *Trichoderma viride* e *P. fluorescens* foram efetivos contra *S. rolfsii* com inibição de 69,40% no crescimento micelial. Sementes de amendoim tratadas com *T. viride* e *T. harzianum* tiveram incidência da podridão-de-escleródio reduzida a 3,75% enquanto que as sementes não tratadas apresentaram incidência de 39,98% (Karthikeyan *et al.*, 2006).

Os resultados obtidos neste trabalho abrem a possibilidade de incorporação de leguminosas específicas no solo ou no substrato de plantio, para o manejo da podridão-de-escleródio em cubiu. Pela produção dessas espécies de leguminosas na Amazônia, em sistema de manejo de poda, as quantidades incorporadas ao substrato de plantio podem ser maiores do que as testadas nesses experimentos. Testes em solos adubados com quantidades de matéria orgânica mais próxima às que são utilizadas pelos agricultores provavelmente evidenciarão melhor o efeito da incorporação das fabáceas no aumento dos teores de nutrientes e de matéria orgânica do solo e esta, por sua vez, poderia ter maior influência na população dos microrganismos antagonistas ao patógeno ou ter maior efeito na população do patógeno pelas substâncias liberadas na sua decomposição. A ocorrência da podridão-de-escleródio é um fator limitante na produção de cubiu na Amazônia. A alternativa apresentada aqui é simples e de fácil acesso aos produtores. Estudos em condições de campo e com a incorporação de outras doses das leguminosas ao substrato poderão definir a dose mais efetiva a ser usada no controle dessa doença.

7 CONCLUSÃO

Verificou-se grande potencial de controle da podridão-de-escleródio e supressão da população de *S. rolfsii*, assim como o incremento dos teores de matéria orgânica e de macro e micronutrientes no substrato de cultivo, com a incorporação de fabáceas. As plantas dos tratamentos com incorporação ao substrato de 40 g.L⁻¹ de *D. heterocarpon*, *G. sepium* e *S. reticulata* tiveram incidência da podridão-de-escleródio em cubiu similar a das plantas do tratamento com fungicida (Viper 700, tiofanato metílico). As plantas de cubiu cultivadas em substrato acrescido da mesma dosagem (40 g.L⁻¹ de substrato) de *E. fusca* tiveram incidência maior da doença que a dos demais tratamentos. A população do patógeno nos substratos acrescidos das fabáceas foi similar a do substrato das plantas tratadas com fungicida.

Doses de *G. sepium*, a partir 80 g de folhas frescas.L⁻¹ incorporadas ao substrato, reduziram a incidência da podridão-de-escleródio em plantas de cubiu. Com a incorporação de 120 g de folhas de *G. sepium*.L⁻¹ de substrato, a incidência da doença foi de 8,33% contra 91,67% no tratamento com fungicida. Com a incorporação de 139 g de folhas de *G. sepium*.L⁻¹ de substrato, a incidência da podridão-de-escleródio em plantas de cubiu foi totalmente suprimida até os 77 dias de cultivo.

A partir da incorporação de 120 de *G. sepium*. L⁻¹ de substrato observou-se redução na população de propágulos de *S. rolfsii*. A dose de 142 g de *G. sepium* reduziu a população de *S. rolfsii* no substrato em 20%. A população de *S. rolfsii* não foi afetada pelo tratamento com fungicida. Esta alternativa de manejo da podridão-de-escleródio, em cubiu, é ambientalmente sustentável e facilmente acessível aos agricultores locais.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acioli, A. N. S.; Costa, G. K. G.; Moura, T. N.; Guimarães, M. A.; Almeida, R.; Miranda, J. F. 2014. Entomofauna Associada ao Cultivo do Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) no Município de Benjamin Constant, Amazonas, Brasil. *EntomoBrasilis*, 7(2): 99-105.
2. Agrios, G. N. 1997. *Plant pathology*. Academic Press, San Diego, 635 p.
3. Álvarez, J. C.; Pinzón, R.; Ospina, L. F.; Medina, N. C.; Carrión, A.; Bautista, E. 1997. Alcaloides isoquinolínicos de la corteza y flores de *Erythrina fusca* Loureiro. *Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas*, 26(1): 39-42.
4. Ambrósio, M. M. Q.; Bueno, C. J.; Padovani, C. R.; Souza, N. L. 2008. Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. *Summa Phytopathologica*, 34(4): 354-358.
5. Anderson, J. M.; Ingram, J. S. I. 1993. *Tropical soil biology and fertility, a handbook of methods*. 2 ed. Oxford University Press, Wallingford, 240 p.
6. Antoine, B. B. B.; Hilaire, K. T.; Koffi, K. G.; Fernand, K.; Seydou, T.; Mamadou, C.; Bomisso, L.; Daouda, K. 2015. Inhibition *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Corticaceae), agente causal de la pourriture du collet de la tige de la tomate (Solanaceae), par *Xylopiia aethiopica* (Dunal) A. rich (Annonaceae) et *Trichoderma* sp. *European Scientific Journal*, 11(12): 61-86.
7. Bala, A.; Murphy, P.; Giller, K. E. 2003. Distribution and diversity of rhizobia nodulating agroforestry legumes in soil from three continents in the tropics. *Molecular Ecology*, 12(4): 917-930.
8. Barbosa, R. N. T.; Halfeld-Vieira, B. A.; Nechet, K. L.; Souza, G. R. 2010. Método para inoculação de *Sclerotium rolfsii* em tomateiro. *Revista Agroambiente*, 4(1): 49-52.

9. Barreto, A. C.; Fernandes, M. F. 2001. Cultivo de *Gliricidia sepium* e *Leucaena leucocephala* em alamedas visando a melhoria dos solos dos tabuleiros costeiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(10): 1287-1293.
10. Barriuso, B.; Mariutti, L. R. B.; Ansorena, D.; Astiasaran, I.; Bragagnolo, N. 2016. *Solanum sessiliflorum* (mana-cubiu) antioxidant protective effect toward cholesterol oxidation: Influence of docosahexaenoic acid. *European Journal Lipid Science Technology*, 118: 1125–1131.
11. Barroso, G.M. 1984. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. V. 2, Viçosa: Imprensa Universitária-UFV, p. 15-100.
12. Basseto, M. A.; Bueno, C. J.; Augusto, F.; Pedroso, M. P.; Furlan, M. F.; Padovani, C. R.; Furtado, E. L.; Souza, N. L. 2012. Solarização em microcosmo: efeito de materiais vegetais na sobrevivência de fitopatógenos de solo e na produção de voláteis. *Summa Phytopathologica*, 38(2): 123-130.
13. Basseto, M. A.; Ceresini, P. C.; Valério Filho, W. V. 2007. Severidade da mela da soja causada por *Rhizoctonia solani* AG-1 IA em função de doses de potássio. *Summa Phytopathologica*, 33: 56-62.
14. Bianchini, A.; Maringoni, A. C.; Carneiro, S. M. T. P. G. 2005. Doenças do feijoeiro. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A.; Rezende, J. A. M. *Manual de fitopatologia*. São Paulo, 2(4): 333-349.
15. Blum, L. E. B.; Amarante, C. V. T.; Arioli, C. J.; Guimarães, L. S.; Dezanet, A.; Hack Neto, P.; Scheidt, F. R. 2003. Reação de genótipos de *Phaseolus vulgaris* à podridão do colo e ao oídio. *Fitopatologia Brasileira*, 28(1): 96-100.
16. Blum, L. E. B.; Rodríguez-Kábana, R. 2004. Efeito de alterações orgânicas do solo sobre a germinação de escleródios, crescimento micelial e doenças induzidas por *Sclerotium rolfsii*. *Fitopatologia Brasileira*, 29(1): 66-74.

17. Blum, L. E.; Prada, A.; Medeiros, E. A.; Amarante, C. 2016. Temperatura, luminosidade e meio de cultura afetando a produção de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 1(1): 1-7.
18. Boari, A. J.; Maciel-Zambolim, E.; Lau, D. D.; Lima, G. S. A.; Kitajima, E. W.; Brommonschenkel, S. S. H.; Zerbini, F. M. 2002. Detecção e caracterização parcial de um isolado do vírus da mancha anelar do amendoim em *Solanum sessiliflorum*. *Fitopatologia brasileira*, 27(3): 249-253.
19. Bonanomi, G.; Antignani, V.; Pane, C.; Scala, F. 2007. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal of Plant Pathology*, 89(3): 311-334.
20. Brasil. 2010. *Manual de hortaliças não-convencionais*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo - Mapa/ACS. 92 p.
21. Bringel, J. M. M.; Silva, G. S. 2000. Efeito antagônico de algumas espécies de plantas a *Helicotylenchus multicinctus*. *Nematologia Brasileira*, 24:179-181.
22. Cadisch, G., Imhof, H., Urquiaga, S., Boddey, R. M., Giller, K. E. 1996. Carbon turnover (δ - 13 C) and nitrogen mineralization potential of particulate light soil organic matter after rainforest clearing. *Soil Biology & Biochemistry*, 28(12): 1555-1567.
23. Campbell, C. L.; Madden, L.V. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley & Sons, New York, 532 pp.
24. Cardoso, S. C.; Soares, A. C. F.; Brito, A. S.; Laranjeira, F. F.; Ledo, C. A. S.; Santos, A. P. 2006. Control of tomato bacterial wilt through the incorporation of aerial part of pigeon pea and crotalaria to soil. *Summa Phytopathologica*, 32(1): 27-33.
25. Chacha, M.; Bojase-Moleta, G.; Majinda, R. R. T. 2005. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. *Phytochemistry*, 66: 99-104.

26. Coelho Netto, R. A.; Ferreira, A. A. B.; Noda, H. 2013. Manejo da podridão-de-*Sclerotium* em pimentão em um argisolo no Amazonas. *Acta Amazonica*, 43(3): 315 – 322.
27. Colodel, C.; Bagatin, R. M. G.; Tavares, T. M.; Petkowicz, C. L. O. 2017. Cell wall polysaccharides from pulp and peel of cubiu: A pectin-rich fruit. *Carbohydrate Polymers*, 174: 226–234.
28. Constantinides, M.; Fownes, J. H. 1994. Nitrogen mineralization from leaves and litter of tropical plants: relationship to nitrogen, lignina and soluble polyphenol concentration. *Soil Biology and Biochemistry*, 26: 49-55.
29. Costa, M. J. N.; Campos, V. P.; Oliveira, D. F.; Pfenning, L. H. 2001. Toxicidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. *Fitopatologia brasileira*, 27: 245-250.
30. Cruz, S. M. C.; Rodrigues, A. A.; Silva, E. K. C.; Oliveira, L. J. M. G. 2013. Supressividade por incorporação de resíduo de fabáceas no controle da fusariose do tomateiro. *Summa Phytopathologica*, 39(3): 180-185.
31. Davet, P. 2004. Microbial ecology of the soil and plant growth. *Science Publishers*, 392p.
32. Debode, J.; Clewes, E.; De Backer, G.; Hofte, M. 2005. Lignin is involved in the reduction of *Verticillium dahliae* var. *longisporum* inoculum in soil by crop residue incorporation. *Soil Biology Biochemistry*, 37: 301–309.
33. Drumond, M. A.; Carvalho Filho, O. M.; Oliveira, V. R. 1999. Introdução e seleção de espécies arbóreas forrageiras exóticas na região semi-árida do Estado de Sergipe. *Acta Botânica Brasílica*, 13(3): 251-256.
34. Dunsdon, A. J.; Stewart, J. L.; Hughes, C. E. 1991. *Gliricidia sepium* In: Dunsdon, A. J.; Stewart, J. L.; Hughes, C. E. *Species descriptions and biomass tables*. Forest Institute, Oxford, p. 35-38.

35. Embrapa. 2011. *Manual de métodos de análise de solos*. Embrapa Solos, Rio de Janeiro. 230 p.
36. Embrapa. 1999. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Brasília, 370p.
37. Embrapa. 1997. *Hortaliças não-convencionais da Amazônia*. Brasília: Embrapa-SPI; Manaus: Embrapa-CPAA, 150 p.
38. Espindola, J. A. A.; Guerra, J. G. M.; Almeida, D. L. de. 1997. *Adubação verde: estratégia para uma agricultura sustentável*. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 20 p.
39. Guerra, Y. L.; Oliveira, T. A. S.; Laranjeira, D.; Lima, L. M.; Melo Filho, P. A.; Santos, R. C. 2015. Control of *Sclerotium rolfsii* in peanut by using *Cymbopogon martinii* essential oil. *African Journal of Microbiology Research*, 9(27): 1684-1691.
40. Harborne, J.B.; Willians, C. 2000. Advances in flavonoidresearch since. *Phytochemistry*, 55 (481-504).
41. Hasna, M.K.; Martensson, A.; Persson, P.; Ramert, B. 2007. Use of compost to manage corky root disease in organic tomato production. *Annals of Applied Biology*, 151(3): 381-390.
42. Herforth, A. 2002. *Anti-fungal plants of the Peruvian Amazon: A survey of ethnomedical uses and biological activity. Emanations from the Rainforest and the Caribbean*. Cornell University, New York, USA. 68 pp.
43. Huber, D. M.; Haneklaus, S. 2007. Managing Nutrition to Control Plant Disease. *Landbauforschung Völkenrode*, 57: 313-322.
44. Inamdar, S. R.; Savanur, M. A.; Eligar, S. M.; Chachadi, V. B.; Nagre, N. N.; Chen, C.; Barclays, M.;Ingle, A.; Mahajan, P.; Borges, A.; Shastry, P.; Kalraiya, R. D.; Swamy, B. M.; Rhodes, J. M.; Yu, L. 2012. The TF-antigen binding lectin from *Sclerotium rolfsii* inhibits

growth of human colon cancer cells by inducing apoptosis in vitro and suppresses tumor growth in vivo. *Glycobiology*, 22 (9): 1227–1235.

45. INPA. Cultivo e Uso do Cubiu. Endereço: <https://www.inpa.gov.br/cpca/areas/cubiu.html>. Acessado em 2017.

46. Karthikeyan, V.; Sankaralingam, A.; Nakkeeran, S. 2006. Biological control of groundnut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* (Sacc.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39(3): 239 – 246.

47. Kimati, H.; Amorin, L.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L. E. A.; Rezende, J. A. M. 2011. *Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas*. Ceres, São Paulo, 704 p.

48. Kumar, N.; Dagla, M. C.; Ajay, B. C.; Jadon, K. S.; Thirumalaisamy, P. P. 2013. *Sclerotium* Stem Rot: A Threat to Groundnut Production. *Popular Kheti*, 1(3): 26-30.

49. Lazarovits, G. 2001. Management of soil-borne plant pathogens with organic soil amendments: a disease control strategy salvaged from the past. *Canadian Journal Plant Pathology*, 23: 1-7.

50. Lin, J. Y.; Scrim, M. A.; Shea, C. R.; James M. Grichnik, J. M.; Omar, M. M.; Monteiro-Riviere, N. A.; Pinnell, S. R. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and E. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48(6): 866-874, 2003.

51. Little, E. 1983. *Common fuelwood crops: a handbook for their identification*. Communi-Tech Associates, Morgantown, 354 p.

52. Lopes, A. S.; Guilherme, L. R. G. 2004. *Interpretação de análise de solos*. Boletim técnico nº 2. Associação Nacional para Difusão de Adubos, São Paulo. 50 pp.

53. Lord, J. S.; Lazzeri, L.; Atkinson, H. J.; Urwin, P. E. 2011. Biofumigation for control of pale potato cyst nematodes: activity of brassica leaf extracts and green manures on *Globodera pallida* in vitro and in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 7882–7890.

54. Lorenzi, H. 1998. *Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. v.2. Platarum, Nova Odessa, Ed. Plantarum, 384 p.
55. Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S. A. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Associação brasileira para pesquisa de potássio e de fosfato, Piracicaba, 319 p.
56. Marcuzzo, L. L.; Schuller, A. 2014. Sobrevivência e viabilidade de escleródios de *Sclerotium rolfsii* no solo. *Summa Phytopathologica*, 40(3): 281-283.
57. Mascato, D. R. L. H.; Monteiro, J. B.; Passarinho, M. M.; Galeno, D. M. L.; Cruz, R. J.; Ortiz, C.; Morales, L.; Lima, E. S.; Carvalho, R. P. 2015. Evaluation of Antioxidant Capacity of *Solanum sessiliflorum* (Cubiu) Extract: An In Vitro Assay. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 8 pages.
58. Montemeyer, V. 1978. Macroclimate and lignina control of litter decomposition rates. *Ecology*, 59:465-472.
59. Moraes, S. R. G., Campos, V. P., Pozza, E. A., Fontanetti, A., Carvalho, G. J.; Maximiniano, C. 2006. Influência de leguminosas no controle de fitonematóides em cultivo orgânico de alface americana e repolho. *Fitopatologia Brasileira*, 31: 188-191.
60. Morales, R. G. F., Santos, I.; Danner, M. A. 2007. Efeito do chorume líquido de suínos na podridão do colo e tombamento de plântulas de feijoeiro causadas por *Sclerotium rolfsii*. *Fitopatologia Brasileira*, 32: 429-433.
61. Moreira, F. M. S.; Siqueira, J. O. 2002. *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras: UFLA. 626p.
62. Nava-Juares, R. A.; Domingues Muñoz, E.; Montes-Belmont, R.; Flores-Moctezuma, H. E. 2005. Fuentes y dosis de nitrógeno en el control de *Sclerotium rofsii* en cebolla en

Morelos, México. XIII Congresso Latinoamericano de Fitopatologia. Cordoba, Argentina, p.302.

63. Neves, W. S.; Freitas, L. G.; Coutinho, M. M.; Parreira, D. F.; Ferraz, S.; COSTA, M. D. 2007. Biofumigação do solo com espécies de brássicas para o controle de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, 31(3): 195-201.

64. Nicholson, R. L.; Hammerschmidt, R. 1992. Phenol compounds and their role in disease resistance. *Annual Review Phytopathology*, 30: 369–389.

65. Parolin, P. 2001. *Senna reticulata*, a Pioneer Tree from Amazonian. *The Botanical Review*, 67(2): 239-254.

66. Paula, P. D.; Campello, E. F. C.; Guerra, J. G. M.; Santos, G. A.; Resende, A. S. 2015. Decomposição das podas das fabáceas arbóreas *Gliricidia sepium* e *Acacia angustissima* em um sistema agroflorestal. *Ciência Florestal*, 25(3): 791-800.

67. Pereira, J. M.; Moreno, R. M. A.; Cantarutti, R. B. 1995. Crescimento e produtividade estacional de germoplasmaforrageiro. Informe de pesquisa. Ceplac/Cepec, Ilhéus, p. 307-309.

68. Pires, A. M. B.; Silva, P. S.; Nardelli, P. M.; Gomes, J. C.; Ramos, A. M. 2006. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). *Ceres*, 53(307): 309-316.

69. Punja, Z. K. 1985. The biology, ecology and control *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review of Phytopatology*, 23:97-127.

70. Ribas, R. G. T.; Junqueira, R. M.; Oliveira, F. L.; Guerra, J. G. M.; Almeida, D. L.; Alves, B. J. R.; Ribeiro, R. L. D. 2003. Desempenho do quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*) consorciado com *Crotalaria juncea* sob manejo orgânico. *Agronomia*, 37(2): 80 – 84.

71. Rocha, G. A.; Carneiro, L. C. 2016. Solarização do solo associada à incorporação de material orgânico na redução da viabilidade de escleródios. *Revista de Ciências Agroambientais*, 14(1): 10-17.

72. Rodríguez-Kábana, R.; Beute, M. K.; Backman, P.A. 1980. A method for estimating numbers of viable sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. *Phytopathology*, 70: 917-919.
73. Rodríguez-Kábana, R.; Kokalis-Burelle, N.; Robertson, D. G.; King, P. S.; Wells, L. W. 1994. Rotations with coastal bermudagrass, cotton and bahiagrass for management of *Meloidogyne arenaria* and southern blight in peanut. *Journal of Nematology*, 26: 665-668.
74. Rossi, C. E. 2002. Adubação verde no controle de nematóides. *Agroecologia hoje*, 2(14): 26-27.
75. Russo, R. O.; Baguion, N. T. 1997. *Erythrina fusca* Loureiro. In: Hanum, I. F.; van der Maesen, L. J. G. *Plant Resources of South-East Asia*. Backhuys Publisher, Holanda, pp. 121-123.
76. Santos, R. N.; Silva, M. G. V.; Braz Filho, R. 2008. Constituintes químicos do caule de *Senna reticulata* Willd. (Leguminosae). *Química Nova*, 31(8): 1979-1981.
77. Sarma, B. K.; Singh, U. P. 2003. Ferulic acid may prevent infection of *Cicer arietinum* by *Sclerotium rolfsii*. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 19: 123–127.
78. Sarma, B. K.; Singh, D. P.; Mehta, S.; Singh, H. B.; Singh, U. P. 2002. Plant growth-promoting rhizobacteria-mediated alterations in phenolic profile of chickpea (*Cicer arietinum*) infected by *Sclerotium rolfsii*. *Journal Phytopathology*, 150: 277–282.
79. Schultze-Kraft, R. 1992. *Desmodium heterocarpon* (L.) DC. ssp. *ovalifolium* (Prain) Ohashi. In: Marnette, L.; Jones, R. M. *Plant Resources of South-East Asia*. Forages, p. 108-110.
80. Severino, J. J.; Dias-Arieira, C. R.; Abe, V. H. F.; Roldi, M.; Silva, C. N.; Tessmann, D. J. J. 2014. First report of *Sclerotium rolfsii* in Dandelion in Parana, Brazil. *Journal of phytopathology*, 162: 553–555.

81. Sharma, R. D. 2006. Adubação verde no controle de fitonematóides. In: Carvalho, A. M.; Amabile, R. F. *Cerrado: adubação verde*. Embrapa Cerrado, Planaltina, p. 237-264.
82. Shim, M. Y.; Starr, J. L. 1997. Effect of soil pH on sclerotial germination and pathogenicity of *Sclerotium rolfsii*. *Peanut Science*, 24:17-19.
83. Silva, D. J. 1999. Análise de plantas: Amostragem e interpretação. Documento 146, Embrapa Semi-Árido, Petrolina, Pernambuco, 9 p.
84. Santos, R. N.; Silva, M. G. V.; Braz Filho, R. 2008. Constituintes químicos do caule de *Senna reticulata* Wild. (Leguminosae). *Química Nova*, 8: 1979-1981.
85. Silva Filho, D. F.; Machado, F. M.; Noda, H.; Yuyama, L. K. O.; Aguiar, J. P. L.; Souza, V. G. 2012. *Cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal): Aspectos agronômicos e nutricionais*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, 39 p.
86. Silva Filho, D.F.; Noda, H.; Machado, F.M. 2013. Cultivares de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) para a olericultura sustentável da Amazônia. In: Noda, H.; Souza, L. A.; Silva Filho, D. F. *Pesquisas agronômicas para a agricultura sustentável na Amazônia Central*. Manaus, Amazonas, p. 27-42.
87. Silva Filho, D.F. 1998. *Cocona (Solanum sessiliflorum Dunal) cultivo e utilizacion*. Caracas, Venezuela: Secretaria Pro-Tempore, Tratado de Cooperacion Amazonica, 114 p.
88. Silva, R. C. M.; Souza, L. A. G. 2013. Características químicas do solo e do material foliar de fabáceas com potencial para adubação verde de agroecossistema de Presidente Figueiredo, AM. In: Noda, H.; Souza, L. A.; Silva Filho, D. F. *Pesquisas Agronômicas para a agricultura sustentável na Amazônia Central*. Manaus, Amazonas, p. 165-184.
89. Souza, L. A. G. 2012. *Fabáceas para adubação verde na terra firme e na várzea da Amazônia central: um estudo em pequenas propriedades rurais em Manacapuru*. Instituto Nacional de Pesquisas na Amazônia, Manaus, AM. 40 p.

90. Souza, S. G. A.; Picanço, P. 2008. Avaliação de biomassa e de nutrientes de *Gliricidia sepium* como fonte de adubo verde em sistemas agroflorestais na Amazônia Ocidental. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus 6 p.
91. Stone, A. G.; Scheuerell, S. J.; Darby, H. M. 2004. Suppression of soilborne diseases in field agricultural systems: organic matter management, cover cropping, and other cultural practices. In: Magdoff, F.; Weil, R. R. *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture*, p. 132-164.
92. Sumberg, J. E. 1985. Note on flowering and seed production in a young *Gliricidia sepium* seed orchard. *Tropical Agriculture*, 62(1): 17-24.
93. Teixeira, V. I.; Dubeux Jr., J. C. B.; Santos, M. V. F.; Lira Jr., M. de A.; Lira, M. de A.; Silva, H. M. S. da. 2010. Aspectos agronômicos e bromatológicos de leguminosas forrageiras no Nordeste Brasileiro. *Archivos de Zootecnia*, 59(226): 245-254.
94. Termorshuizen, A. J.; Van Rijn, E.; Van Der Gaag, D. J.; Alabouvette, C.; Chen, Y.; Lagerlof, J.; Malandrakis, A. A.; Paplomatas, E. J.; Ramert, B.; Ryckeboer, J.; Steinberg, C.; Zmora-Nahum, S. 2007. Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: variability in pathogen response. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(8): 2461-2477.
95. Tomazeli, V. N.; Santos, I.; Morales, R. G. F. 2011. Resíduos orgânicos para o controle das doenças do feijoeiro causadas por *Sclerotium rolfsii*. *Ambiência*, 7(1): 65-74.
96. Torrealba, S. 2006. Cuantificación de metabolitos secundarios en extractos etanólicos de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud y *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. y el efecto de dichas plantas sobre el desarrollo *in vitro* de *Sclerotium rolfsii*. Trabajo de conclusión de curso, Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", Barquisimeto, Venezuela. 59 pp.
97. Urdaneta, L.; Sanabria, M. E.; Rodríguez, D.; Camacaro, M. P. 2013. Grupos de metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Gliricidia sepium* y su potencial antifúngico sobre *Colletotrichum acutatum*. *Interciencia*, 38(6): 449-454.

98. Van Soest, P. J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association Official Agricultural Chemists*, 46(5): 829-835.
99. Viana, F. M. P.; Souza, N. L. 2000. Controle do tombamento de plântulas de feijoeiro causado por *Sclerotinia sclerotiorum* com a incorporação de matéria orgânica ao substrato. *Summa Phytopathologica*, 26(1): 94-97.
100. Yuyama, L. K. O.; Macedo, S. H. M.; Aguiar, J. P. L.; S. Filho, D.; Yuyama, K.; Fávaro, D. I. T.; Vasconcellos, M. B. A. 2007. Quantificação de macro e micro nutrientes em algumas etnovarietades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). *Acta Amazonica*, 37: 425-430.
101. Zaharah, A. R.; Bah, A. R. 1999. Patterns of decomposition and nutrient release by fresh *Gliricidia* (*Gliricidia sepium*) leaves in an ultisol. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 55: 269–277.