

# Agrotrópica

Volume 25, número 3, setembro a dezembro de 2013



**Centro de Pesquisas do Cacau  
Ilhéus - Bahia**

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**

**Ministro:** Antônio Eustáquio Andrade Ferreira

**Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC**

**Diretor:** Helinton José Rocha

**Superintendência Regional no Estado da Bahia - SUEBA**

**Superintendente:** Juvenal Maynart Cunha

**Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)**

**Chefe:** Adonias de Castro Virgens Filho

**Centro de Extensão (CENEX)**

**Chefe:** Sergio Murilo Correia Menezes

**Superintendência Regional no Estado de Rondônia - SUERO**

**Superintendente:** Wilson Destro

**Superintendência Regional no Estado do Pará - SUEPA**

**Superintendente:** Jay Wallace da Silva e Mota

Agrotropica, v. 1, nº1 (1989)  
Ilhéus, BA, Brasil, CEPLAC/CEPEC, 1989

v.

Quadrimestral

Substitui "Revista Theobroma"

1. Agropecuária - Periódico.

CDD 630.5

**INFORMAÇÕES SOBRE A CAPA:** "Onicóforo" (*Peripatus* sp.) é encontrado na serapilheira dos cacauais no Sul da Bahia. Entre os invertebrados, ele é o táxon-bandeira, cuja ocorrência indica regiões bem preservadas e de alta diversidade biológica (New, 1995).

**AGROTRÓPICA é indexada em:**

AGRINDEX; THE BRITISH LIBRARY; CAB (i.e. Horticultural Abstracts, Review of Plant Pathology, Forestry Abstracts); AGROBASE; Agricultural and Environment for Developing regions (TROPAG); ULRICH'S INTERNATIONAL PERIODICALS DIRECTORY (Abstract on Tropical Agriculture, Agricultural Engineering Abstracts, Agroforestry Abstracts, Bibliography of Agriculture, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Exerp Medical, Food Science & Technology Abstracts, Indice Agricola de America Latina y el Caribe, Nutrition Abstracts, Protozool. Abstracts, Review of Applied Entomology, Seed Abstracts, Tropical Oil Seeds Abstracts).





**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**

**CEPLAC - Comissão Executiva do  
Plano da Lavoura Cacaueira**

**AGROTRÓPICA**. Publicação quadrimestral  
do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)/  
CEPLAC.

**Comitê Editorial:**

Adonias de Castro Virgens Filho; Almir  
Martins dos Santos; Antônio Cesar Costa  
Zugaib; Dan Érico Vieira Petit Lobão; Edna  
Dora Martins Newman Luz; George  
Andrade Sodré; Givaldo Rocha Niella;  
Jacques Hubert Charles Delabie; José  
Basílio Vieira Leite; José Inácio Lacerda  
Moura; José Luís Bezerra; José Luís Pires;  
José Marques Pereira; Karina Peres  
Gramacho; Manfred Willy Muller; Maria  
das Graças Conceição Parada Costa Silva;  
Paulo César Lima Marrocos; Raúl René  
Melendez Valle; Stela Dalva Vieira Midlej  
Silva; Uilson Vanderlei Lopes.

**Editor:** Ronaldo Costa Argôlo.

**Coeditor:** Quintino Reis de Araujo.

**Normalização de referências bibliográ-  
ficas:** Maria Christina de C. Faria

**Editoração eletrônica:** Jacqueline C.C. do  
Amaral e Selenê Cristina Badaró.

**Capa:** Ronaldo Costa Argôlo Filho

**Endereço para correspondência:**

**AGROTRÓPICA**, Centro de Pesquisas  
do Cacau (CEPEC), C.P. 07, 45600-970,  
Itabuna, Bahia, Brasil.

**Telefone:** (73) 3214 -3218

**Fax:** (73) 3214 - 3218

**E-mail:** agrotrop@cepec.gov.br

**Tiragem:** 700 exemplares

# AGROTRÓPICA

V. 25

Setembro - dezembro

2013

N.3

## CONTEÚDO

### ARTIGOS

- 137 Avaliação da qualidade do solo em áreas de cacau cabruca, mata e policultivo no Sul da Bahia. **C. A. F. Fernandes, Q. R. Araujo, G. A. Sodré, L. S. Souza, E. Gross, S. Oliveira, V. Baligar.**
- 149 Caracterização de um solo de mangue no rio graciosa, na Bahia, Brasil: destacando metais pesados e populações microbianas (em inglês). **Q. R. Araujo, R. L. O. Krause, S. O. Santana, T. G. Araujo, J. R. Mendonça, A. V. Trindade, K. Y. Epps.**
- 163 Seleção de clones de cacaueiros resistentes à murcha-de-ceratomyces em condições de campo. **S. D. V. M. Silva, U. V. Lopes, V. O. Damaceno, A. W. de O. Rocha Júnior.**
- 171 Urina de vaca e fosfito de cobre no crescimento e desenvolvimento de mudas de tomateiro. **L. L. Belan, Elias Terra Werner, G. M. Sturm, S. Coser, J. A. T. do Amaral.**
- 181 Desenvolvimento de mudas de beterraba em substratos comerciais tratados com biochar. **S. L. Lima, S. Tamiozzo, F. A. Petter, B. S. Marimon, B. H. Marimon Junior.**
- 187 Uso de extratos vegetais na proteção de plantas de inhame contra *Curvularia eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. **D. O. do C. de Almeida, J. T. de Souza, R. F. C. Moreira.**
- 199 Indutores de resistência à *Moniliophthora perniciosa* em plântulas de cacaueiro através da potencialização das sementes. **D. R. Vieira, S. D. V. M. Silva, V. O. Damaceno, L. P. dos Santos Filho, R. R. Valle.**
- 209 Crescimento de mudas de *Caesalpinia echinata* em função de diferentes substratos. **P. C. L. Marrocos, T. R. Marrocos, G. A. Sodré, K. Curvelo, D. E. Lobão, R. R. Valle.**
- 215 Detecção de *Salmonella* em serpentes de cativeiro por isolamento tradicional e PCR específico (em inglês). **L. da S. Argôlo, B. M. Maciel, R. C. Argôlo Filho, Rachel P. Rezende.**
- 223 Fungos endófitos em plantas ornamentais tropicais na Bahia. **K. S. Cerqueira, E. D. M. N. Luz, D. M. A. Magalhães, J. L. Bezerra.**

### NOTA CIENTÍFICA

- 233 *Onicóforo Peripatus* sp. (Onychophora: peripatidae) como indicador de conectividade na paisagem cacaueira no Sudeste da Bahia, e sua importância para a conservação. **J. H. C. Delabie, C. Jared, M. M. Antoniazzi, B. Jahyny, S. Lacau, C. dos S. F. Mariano1, A. Vasconcellos.**

Volume 25, páginas 133 - 240, publicado em fevereiro de 2014.



**MINISTRY OF AGRICULTURE  
LIVESTOCK AND FOOD SUPPLY**

**CEPLAC - Executive Commission of  
the Cacao Agriculture Plan**

**AGROTRÓPICA.** Published every four months by the Cacao Research Center (CEPEC)/CEPLAC.

**Editorial Committee:**

Adonias de Castro Virgens Filho; Almir Martins dos Santos; Antônio Cesar Costa Zugaib; Dan Érico Vieira Petit Lobão; Edna Dora Martins Newman Luz; George Andrade Sodré; Givaldo Rocha Niella; Jacques Hubert Charles Delabie; José Basílio Vieira Leite; José Inácio Lacerda Moura; José Luís Bezerra; José Luís Pires; José Marques Pereira; Karina Peres Gramacho; Manfred Willy Muller; Maria das Graças Conceição Parada Costa Silva; Paulo César Lima Marrocos; Raúl René Melendez Valle; Stela Dalva Vieira Midlej Silva; Uilson Vanderlei Lopes.

**Editor:** Ronaldo Costa Argôlo.

**Coeditor:** Quintino Reis de Araujo.

**Revision of bibliographical references:**  
Maria Christina de C. Faria

**Desktop publish:** Jacqueline C.C. do Amaral and Selenê Cristina Badaró.

**Cover:** Ronaldo Costa Argôlo Filho

**Address for correspondence:**  
**AGROTRÓPICA**, Cocoa Research Center (CEPEC), P.O.Box 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brazil.

**Telephone:** 55 (73) 3214 - 3218

**Fax:** 55 (73) 3214-3218

**E-mail:** agrotrop@cepec.gov.br

**Circulation:** 700 copies.

# AGROTRÓPICA

V.25

September - December

2013

N. 3

## ARTICLES

- 137** Evaluation of soil quality in areas of cocoa cabruca, forest and multicropping in Southern Bahia, Brazil (in Portuguese). **C. A. F. Fernandes, Q. R. Araujo, G. A. Sodré, L. S. Souza, E. Gross, S. Oliveira, V. Baligar.**
- 149** Characterization of a mangrove soil in the graciosa river estuary, in Bahia, Brazil: highlighting heavy metals and microbial populations. **Q. R. Araujo, R. L. O. Krause, S. O. Santana, T. G. Araujo, J. R. Mendonça, A. V. Trindade, K. Y. Epps.**
- 163** Selection of cacao genotypes resistant to *Ceratocystis* wilt under field conditions (in Portuguese). **S. D. V. M. Silva, U. V. Lopes, V. O. Damaceno, A. W. de O. Rocha Júnior.**
- 171** Cow urine and phosphite copper in the growth and development of tomato seedlings (in Portuguese). **L. L. Belan, Elias Terra Werner, G. M. Sturm, S. Coser, J. A. T. do Amaral.**
- 181** Development of sugar beet seedlings in commercial substrates treated with biochar (in Portuguese). **S. L. Lima, S. Tamiozzo, F. A. Petter, B. S. Marimon, B. H. Marimon Junior.**
- 187** The use of plant extracts to protect yam against *Curvularia eragrostidis* and *Phyllosticta* sp. (in Portuguese). **D. O. do C. de Almeida, J. T. de Souza, R. F. C. Moreira.**
- 199** Evaluation of inductors for resistance to *Moniliophthora perniciosa* of cocoa seedlings seeds through potentiation (in Portuguese). **D. R. Vieira, S. D. V. M. Silva, V. O. Damaceno, L. P. dos Santos Filho, R. R. Valle.**
- 209** Growth of *Caesalpinia echinata* seedlings as a function of different substrates (in Portuguese). **P. C. L. Marrocos, T. R. Marrocos, G. A. Sodré, K. Curvelo, D. E. Lobão, R. R. Valle.**
- 215** Detection of *Salmonella* in captive snakes by traditional isolation and specific PCR. **L. da S. Argôlo, B. M. Maciel, R. C. Argôlo Filho, Rachel P. Rezende.**
- 223** Endophytic fungi in ornamental tropical plants in Bahia, Brazil (in Portuguese). **K. S. Cerqueira, E. D. M. N. Luz, D. M. A. Magalhães, J. L. Bezerra.**
- SCIENTIFIC NOTE**
- 233** The velvet worm *Peripatus* sp. (Onychophora: Peripatidae) as a connectivity indicator in the cocoa landscape in southeast of the state of Bahia, Brazil, and its importance for conservation (in Portuguese). **J. H. C. Delabie, C. Jared, M. M. Antoniazzi, B. Jahyny, S. Lacau, C. dos S. F. Mariano1, A. Vasconcellos.**

## CONTENTS



## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

**1.** O original para publicação em português, inglês ou espanhol, deve ter no máximo 18 páginas numeradas, em formato A4 (21,0 x 29,7 cm), fonte Times New Roman, corpo 12, espaço 1,5 (exceto Resumo e Abstract, em espaço simples), digitado em Word/Windows. O artigo deverá ser encaminhado à Comissão Editorial da revista por meio eletrônico. No rodapé da primeira página deverão constar o endereço postal completo e o endereço eletrônico do(s) autores(s). As figuras e tabelas devem vir à parte.

**2.** Os artigos devem conter: título, resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos e literatura citada.

**3.** Os artigos científicos e notas científicas devem conter introdução que destaque os antecedentes, a importância do tópico e revisão de literatura. Nos materiais e métodos devem-se descrever os materiais e métodos usados, incluindo informações sobre localização, época, clima, solo etc., bem como nomes científicos se possível completo de plantas, animais, patógenos etc., o desenho experimental e recursos de análise estatística empregada. Os resultados e discussão poderão vir juntos ou separados e devem incluir tabelas e figuras com suas respectivas análises estatísticas. As conclusões devem ser frases curtas, com o verbo no presente do indicativo, sem comentários adicionais e derivados dos objetivos do artigo.

**4. Título** - Deve ser conciso e expressar com exatidão o conteúdo do trabalho, com no máximo 15 palavras.

**5. Resumo e Abstract** - Devem conter no máximo 200 palavras. Abstract deve ser tradução fiel do resumo em inglês.

**6. Palavras chave** - Devem ser no máximo de seis, sem estar contidas no título.

**7. Introdução** - Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

**8. Material e Métodos** - Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

**9. Resultados, Discussão e Conclusões** - De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.

**10. Agradecimentos** - As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

**11. Unidades de medida** - Usar exclusivamente o Sistema Internacional (S.I.).

**12. Figuras (gráficos, desenhos, mapas)** - devem ser apresentadas com qualidade que permita boa reprodução gráfica; devem ter 8,2 cm ou 17 cm de largura; as fotografias devem ser escaneadas com 300 dpi e gravadas em arquivo TIF, separadas do texto.

**13. As tabelas** - devem ser apresentadas em Word ou Excel, e os dados digitados em Times New Roman.

**14. Literatura Citada** - No texto as referências devem ser citadas da seguinte forma: Silva (1990) ou (Silva, 1990).

A normalização das referências deve seguir os exemplos abaixo:

### PERIÓDICO

REIS, E. L. 1996. Métodos de aplicação e fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. *Agrotropica* (Brasil) 8 (2): 39 - 44.

### LIVRO

BALL, D. M.; HOVELAND, C. S.; LACEFIELD, G. D. 1991. Southern forrages. Atlanta, PPI. 256p.

### PARTE DE LIVRO

ENTWISTLE, P. F. 1987. Insects and cocoa. In Wood, G.A.R.; Lass, R. A. Cocoa. 4 ed. London, Longman. pp.366-443.

### DISSERTAÇÃO

ROCHA, C. M. F. 1994. Efeito do nitrogênio na longevidade da folha de cacau (*Theobroma cacao* L.). Dissertação Mestrado. Salvador, UFBA. 31p.

### TESE

ROHDE, G. M. 2003. Economia ecológica da emissão antropogênica de CO<sub>2</sub> - Uma abordagem filosófica-científica sobre a efetuação humana alopoiética da terra em escala planetária. Tese Doutorado. Porto Alegre, UFRGS/IB. 235p.

### MONOGRAFIA SERIADA

TREVIZAN, S. D. P.; ELOY, A. L. S. 1995. Nível alimentar da população rural na Região Cacaueira da Bahia. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n° 180. 19p.

### PARTE DE EVENTO

PIRES, J. L. et al. 1994. Cacao germplasm characterisation based on fat content. In International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. Proceedings. Kuala Lumpur, INGENIC. pp.148-154.

A literatura citada deverá referir-se, de preferência, a trabalhos completos publicados nos últimos 5 anos.

**15. Correspondência de encaminhamento** do artigo deverá ser assinada pelo autor e coautores.

Os autores receberão cópias do seu trabalho publicado.

## GUIDELINES TO AUTHORS

**1 -** The manuscript for publication in Portuguese, English or Spanish, not exceed 18 numbered pages, format A4, in Times New Roman, 12, 1.5 spaced (except Resumo and Abstract, simple spaced) typed in Word. The article must be addressed to the Editorial Commission in 4 printed copies and also in CD copy. Complete mailing address and e-mail of the author(s) must appear at the bottom of first page. Three out of the four copies should not state the author's name or acknowledgements, since these copies will go to reviewers. Figures (drawings, maps, pictures and graphs) and tables should be sent separately and ready for publication;

**2 -** Articles must contain: title, abstract, introduction, material and methods, results and discussion, conclusions, acknowledgements and literature cited (references);

**3 -** Scientific articles and notes must include an introduction highlighting the background and importance of the subject and literature review. Under materials and methods one must mention informations about locations, time, climate, soil, etc. and furnish latin names of plants, animals, pathogens, etc., as well experimental designs and statistical analysis used. Conclusions must be objective and derived from relevant results of the research.

**4 - Title** - It must be concise (not exceed 15 words) and express the real scope of the work.

**5 - Abstract** - No more than 200 words.

**6 - Key words** - Six at most, and should not be present in the title.

**7 - Introduction** – should be concise containing a strictly necessary review to the introduction of the topic and support for the methodology and discussion

**8 - Material and Methods** – may be presented in a continuous descriptive form or with subheadings, in a manner that allows the reader to understand and reproduce the described methodology. Bibliographic citations can be used.

**9 - Results, Discussion and Conclusions** – In accordance with the format chosen, these parts should be presented clearly, with the aid of tables, graphs and figures so as to leave no doubt as to the authenticity of the results, viewpoints discussed and conclusions emitted.

**10 - Acknowledgements** – Persons, institutions and companies that contributed to the accomplishment of the work should be mentioned at the end of the text before the Bibliographic References

**11 - Measurement units** - Use only the International System.

**12 - Figures** (drawings, maps, pictures and graphs) - They must possess good quality for graphic reproduction; size 8.2 cm or 17 cm wide; photos should be scanned at 300 dpi and recorded, out of the text, in TIF file.

**13 - Tables** - It should be present in Word or Excel and data typed in Times New Roman, 12.

**14 - References** - literature cited in the text must be written as follows: Silva (1990) or (Silva, 1990).

Citation should be given as follows.

### PERIODICALS

REIS, E. L. 1996. Métodos de aplicação e fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. *Agrotropica* (Brasil) 8(2): 39 - 44.

### BOOKS

BALL, D. M.; HOVELAND, C. S.; LACEFIELD, G. D. 1991. Southern forages. Atlanta, PPI. 256p.

### BOOK CHAPTERS

ENTWISTLE, P. F. 1987. Insects and cocoa. In Wood, G.A.R.; Lass, R. A. Cocoa. 4 ed. London, Longman. pp.366-443.

### DISSERTATION

ROCHA, C. M. F. 1994. Efeito do nitrogênio na longevidade da folha de cacau (*Theobroma cacao* L.). Dissertação Mestrado. Salvador, UFBA. 31p.

### THESIS

ROHDE, G. M. 2003. Economia ecológica da emissão antropogênica de CO<sub>2</sub> - Uma abordagem filosófica-científica sobre a efetuação humana alopoiética da terra em escala planetária. Tese Doutorado. Porto Alegre, UFRGS/IB. 235p.

### SERIAL MONOGRAPHS

TREVIZAN, S. D. P.; ELOY, A. L. S. 1995. Nível alimentar da população rural na Região Cacaueira da Bahia. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n° 180. 19p.

### PART OF MEETINGS

PIRES, J. L. et al. 1994. Cacao germplasm characterisation based on fat content. In International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. Proceedings. Kuala Lumpur, INGENIC. pp.148-154.

Literature cited should include published papers rather in the last 5 years.

**15 - Correspondence** of guiding will have to be signed by the author and coauthors.

After attending the corrections of the reviewers the author should return to the Editor a definitive copy of the corrected version and CD copy in the software recommended by the editors.

Authors will receive the reprints of their published paper.

## **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO SOLO EM ÁREAS DE CACAU CABRUCUA, MATA E POLICULTIVO NO SUL DA BAHIA**

***Cinira A. F. Fernandes<sup>1</sup>, Quintino R. Araujo<sup>2,3</sup>, George A. Sodré<sup>2,3</sup>, Luciano S. Souza<sup>4</sup>, Eduardo Gross<sup>3</sup>, Sérgio Oliveira<sup>3</sup>, Virupax Baligar<sup>5</sup>***

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano. cinirafarias@gmail.com; <sup>2</sup>Centro de Pesquisa do Cacau (CEPEC/CEPLAC), Ilhéus, Bahia, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil;

<sup>4</sup>Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia, Brasil; <sup>5</sup>USDA / ARS Maryland, EUA.

O índice de qualidade do solo (IQS) constitui uma ferramenta para agregação e simplificação de informações de natureza diversa para “quantificar” a qualidade edáfica. O presente estudo teve como objetivo avaliar os índices de qualidade do solo, utilizando a metodologia proposta por Karlen e Stott (1994), em sistemas de cacau cabruca, mata e policultivo, comparando a qualidade do solo com o sistema de uso do solo e correlacionando-a com os atributos da cobertura arbórea nas cabrucas, em dois imóveis rurais dos municípios de Ilhéus e Arataca, na região sul da Bahia. As amostras de solo foram coletadas nas profundidades de 0-10, 10-30 e 30-50 cm, para realização de análises físicas e químicas. Os índices de qualidade encontrados mostraram que houve uma variação decrescente de Cabruca 1 > Cabruca 2 = Policultivo > Mata; que de maneira geral, os solos avaliados apresentam baixos níveis de fertilidade e caráter distrófico, e que a metodologia aplicada mostrou-se adequada para o estudo da qualidade do solo como base para decisões relacionadas às melhorias edáficas.

**Palavras-chave:** Mata Atlântica, propriedades do solo, indicadores de qualidade, cobertura arbórea.

**Evaluation of soil quality in areas of cocoa cabruca, forest and multicropping in Southern Bahia, Brazil.** The soil, in general, seems to be one of the beneficiary components from this agricultural system. The soil quality index (SQI) is a tool for aggregation and simplification of various kinds of information for quantifying the edaphological quality. This study aimed to evaluate the indices of soil quality, using the methodology proposed by Karlen and Stott (1994), in systems of cacao-cabruca, forest and multicropping, comparing the soil quality with the land use and correlating it with tree attributes in cabrucas, in two rural properties in the cities of Ilheus and Arataca, southern Bahia, Brazil. Soil samples were collected at 0-10, 10-30 and 30-50 cm, to perform physical and chemical analysis. The soil quality indexes showed a variation descending of Cabruca 1 > Cabruca 2 = Intercropping > Forest; in general, the soils had low levels of fertility and dystrophic character; and that the methodology proved to be adequate for the study of soil quality as a basis for decisions related to improvements in the soil.

**Key words:** Atlantic rain forest, soil properties, indicators of quality, stand of tree cover.



## Introdução

A Mata Atlântica é considerada um dos mais ricos conjuntos de ecossistemas em termos de diversidade biológica do Planeta. A Mata Atlântica do Sul da Bahia constitui-se em um dos mais importantes centros de biodiversidade e endemismo de todo o bioma. A região sul da Bahia possui um modelo agrossilvicultural sustentável chamado cacau cabruca que tem permitido a conservação de remanescentes florestais da Mata Atlântica, conservando indivíduos arbóreos de elevada significância econômica, social e ecológica (Lobão et al., 1997). Neste sistema, um dos principais produtos econômicos da região, o cacau, pode ser identificado como uma atividade econômica de grande potencial para a manutenção dos fragmentos e ampliação da conectividade, uma vez que é cultivado em sistema agroflorestal denominado cabruca.

O cenário “pós-revolução verde” passou a exigir, em âmbito mundial, a busca de parâmetros capazes de demonstrar se um agroecossistema está sendo perturbado ou que não é sustentável do ponto de vista ambiental e econômico (Derpsch, 2000). Dessa forma, a qualidade do solo influencia o potencial de uso, a produtividade e a sustentabilidade global do agroecossistema, sendo seu estudo necessário para fornecer informações sobre o manejo do solo e assegurar a tomada de decisões para uma melhor utilização desse recurso (Sposito e Zabel, 2003).

O conceito de qualidade do solo surgiu no final da década de 70 e durante os 10 anos seguintes esteve muito associado ao conceito de fertilidade (Karlen e Stott, 1994). Entretanto, a percepção evoluiu principalmente nos últimos 10 anos, e, num entendimento mais amplo, percebe-se que não basta apenas o solo apresentar alta fertilidade química, mas, também, possuir boas características físicas e abrigar uma alta diversidade de organismos (Sposito e Zabel, 2003).

Segundo Karlen e Stott (1994) a definição mais aceita atualmente de qualidade do solo é uma avaliação sistêmica desse recurso, que permite compreender a capacidade de um determinado solo desenvolver múltiplas funções no ambiente, mantendo a sustentabilidade do ecossistema. O processo de avaliação necessariamente envolve a seleção de indicadores, os quais são atributos e ou propriedades pedogenéticas naturais que podem ser utilizados para avaliar o comportamento de um solo específico.

Os indicadores formam um conjunto de dados mínimos que são utilizados para avaliar o comportamento das funções principais do solo, associadas com cada objetivo de utilização. O mesmo indicador pode ser incluído em diferentes funções e até mesmo ponderado com valores diferentes, quando utilizado em mais de uma função, dependendo da sua relação ou importância (Karlen e Stott, 1994).

Alguns autores têm proposto que a partir da definição das funções e atributos relacionados à qualidade do solo, possa-se realizar a avaliação global de um conjunto de indicadores de qualidade (Chaer, 2001; Doran e Parkin, 1994). Estes indicadores estão relacionados a atributos do solo, sendo que a soma do efeito dos atributos selecionados, que são determinantes da qualidade do solo naquele ambiente, é expressa em um índice de qualidade (Burger e Kelting, 1999), onde a cada atributo é associado um peso, ou pontuação (Karlen e Stott, 1994; Glover et al., 2000).

O modelo de avaliação do índice de qualidade do solo proposto por Karlen e Stott (1994) é aditivo e utiliza uma série de funções principais do solo, às quais são atribuídos pesos numéricos para cada função na composição do índice geral de qualidade.

No Brasil, dois trabalhos iniciais, Chaer (2001) e Souza et al. (2003), aplicaram o método de Karlen e Stott (1994). Chaer (2001) modificou o IQS para avaliar o efeito de diferentes manejos na cultura do eucalipto sobre a qualidade do solo e verificaram mudanças no solo decorrentes dos sistemas de manejo e seus efeitos na qualidade do mesmo para produção de floresta cultivada, podendo-se afirmar que os índices mais elevados realmente correspondem aos solos com melhor qualidade. Souza et al. (2003) avaliaram em três diferentes classes de solos, representativas dos Tabuleiros Costeiros, cultivados com citros e concluíram que a metodologia utilizada mostrou-se adequada para avaliar a qualidade do solo e ajudar na escolha de sistemas de manejo do solo para as culturas.

Uma moderna concepção de qualidade de solo deve ser coerente com as particularidades inerentes a cada ecossistema. Deve considerar, por exemplo, que o principal problema nos solos tropicais é a degradação do solo e a carência de nutrientes, enquanto, nos solos temperados, a contaminação química costuma ser a maior preocupação. Essa abordagem diferenciada é essencial para que se encontrem soluções que

efetivamente contribuam para o desenvolvimento de manejos sustentáveis do solo. Além disso, a difusão do conceito, tanto entre pesquisadores como entre agricultores, é um fator importante para o desenvolvimento de aspectos culturais voltados à agricultura (Zilli et al., 2003).

Até que estes estudos estivessem mais consolidados, grande parte das avaliações analisava as propriedades do solo de forma segmentada. Incluem-se neste contexto, os estudos de solo no sul da Bahia onde, especialmente, o cacau cabruca se desenvolveu e se revelou como um sistema agrícola conservacionista que pode causar menores impactos ambientais.

No presente trabalho, objetivou-se avaliar os índices de qualidade do solo, utilizando a metodologia proposta por Karlen e Stott (1994), em dois sistemas de cacau cabruca, mata e policultivo, comparando-a com o sistema de uso do solo e correlacionando com os atributos da cobertura arbórea nas cabruças.

## Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido com solos coletados em duas propriedades agrícolas localizadas nos municípios de Ilhéus e Arataca, na Região Cacaueira do estado da Bahia, que está inserida no corredor central da Mata Atlântica, um dos principais centros de endemismo do bioma, cuja formação vegetal primária dominante era de floresta tropical úmida costeira, classificada por Veloso et al. (1991) como floresta ombrófila densa, pertencente à zona neotropical.

O clima na região, de acordo com a classificação de Köppen, é do tipo Af, floresta tropical quente e úmida sem estação seca, com precipitação superior a 1.300 mm por ano, temperatura média de 23°C e umidade relativa de 80%.

No Município de Ilhéus foi selecionada uma área do Projeto de Assentamento (P. A.) Frei Vantui. O P. A. tem uma área de 476 ha, situada nas coordenadas 14°48'09" S e 39°07'54 W, à margem da Rodovia BR-415, a 10 km de Ilhéus, Bahia. O assentamento possui 39 famílias, que vêm trabalhando no sistema agroecológico, desde o início do assentamento, em áreas individuais e coletivas. É cultivado com 200 ha de cacau em sistema cabruca, em sua maioria, e uma área menor com sombreamento de eritrina e seringueira, além de

cultivos anuais e pastagens. O solo predominante na área corresponde ao Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico típico (Typic Hapludult), A moderado epieutrófico, textura média argilosa, fase floresta tropical perenifólia, relevo ondulado e forte ondulado, conforme classificação feita neste estudo (Embrapa, 2006). Nesta propriedade foram escolhidas três áreas para estudo do solo, representadas por mata (M), policultivo (Po) e cabruca (C1), localizadas em uma mesma faixa de relevo e solo.

As informações sobre o histórico de manejo da área foram obtidas por meio de entrevistas com o proprietário da área no assentamento. A área de mata está em um processo de regeneração avançada, estando atualmente classificada como uma mata secundária, embora tenha sofrido ações antrópicas, nos últimos 30 anos, como a retirada de algumas árvores para utilização da madeira.

A área de policultivo anual caracteriza-se por estar, nos últimos 10 anos, sendo cultivada com culturas de ciclo curto como feijão, mandioca, quiabo, batata-doce, milho e banana, em alguns locais. O sistema de plantio é de corte e queima e utilização da enxada no manejo do mato. A última queima da área foi há 5 anos.

Na área de cacau cabruca foi realizada correção do solo com aplicação de calcário há dois anos, dois meses depois aplicação de fosfato (Fosbahia) e da farinha de rocha MB-4 no cacaueiro. O produtor não tem controle preciso das formulações e quantidades aplicadas. Dos tratamentos culturais recomendados pelos órgãos de extensão da região, faz-se apenas uma roçagem anual e as colheitas.

A segunda área de cacau cabruca (C2) localiza-se no município de Arataca, Bahia, na Fazenda Hiawatha, situada na coordenada 15°17'38.9" S e 38°28'14.1" W. A Fazenda possui uma área cultivada com cacau em sua grande maioria no sistema cabruca, seringueira e pastagem com criação de bovinos. O solo predominante na área é Cambissolo Háplico Distrófico típico (Typic dystropept).

As informações sobre o histórico de manejo da área foram obtidas em entrevistas com o gerente da propriedade. O manejo utilizado nesta área tem sido a limpeza de copa e roçagem duas vezes no ano. A correção e a fertilização do solo na área não são realizadas há mais de 10 anos.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, dispostos perpendicularmente ao declive do

terreno, com três repetições, de forma que, em cada uma das áreas de estudo, foram marcadas três parcelas de 50x25 m, para coleta dos solos. Em cada parcela foram abertas oito micro-trincheiras de forma aleatória, com a dimensão de 50x50x50 cm, e realizadas as coletas em três profundidades do solo: 0-10 cm (P1), 10-30 cm (P2) e 30-50 cm (P3).

Na avaliação da qualidade de solo foi utilizado o modelo de índice de qualidade de solo proposto por Karlen e Stott (1994), com modificações e indicadores escolhidos de acordo com os objetivos da avaliação, para refletir mais apropriadamente a quantificação do IQS nas áreas da C1 e C2, nas três profundidades de P1, P2 e P3.

Para análises químicas e físicas foram utilizadas amostras deformadas em forma de terra fina seca ao ar (TFSA), exceto para determinação da densidade do solo, para a qual se utilizou amostra indeformada, coletada com anel de Kopeck. Em cada parcela foram abertas oito micro-trincheiras de forma aleatória, com a dimensão de 50x50x50 cm, e realizadas as coletas em três profundidades do solo: 0-10 cm (P1), 10-30 cm (P2) e 30-50 cm (P3). Para as amostras de solo deformado, cada parcela foi representada pela mistura em campo destas oito amostras simples, e retirada apenas uma amostra composta de cada profundidade. Para determinação da densidade de solo foram coletadas três amostras compostas de seis simples de cada profundidade por parcela, para obtenção e adoção do valor médio.

As análises químicas e físicas foram realizadas no Laboratório de Solos do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), onde foram analisadas na análise física densidade do solo (Ds), densidade de partículas (Dp), porosidade total estimada (Pt), areia grossa, areia fina, argila total, silte e equivalente de umidade (Eq.Um.).

Todas as análises foram realizadas de acordo com métodos analíticos descritos em EMBRAPA (1997). A granulometria foi determinada a partir da dispersão de 10 g de TFSA com 50 ml de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> e agitação a 10.000 rpm, durante 15 minutos. As frações areia grossa e fina foram separadas em peneiras com malhas de 0,2 mm e 0,053 mm de abertura, respectivamente. A fração argila foi determinada pelo método da pipeta, e a fração silte calculada por diferença; densidade do solo (Ds) determinada pelo método do anel volumétrico; densidade de partículas (Dp) foi determinada em 20 g de TFSA em balões de

50 ml, utilizando-se álcool etílico como líquido penetrante. A porosidade total foi estimada pela fórmula  $(100 (Dp - Ds) / Dp)$ .

As análises químicas, os elementos determinados foram: carbono, nitrogênio, pH em água, hidrogênio mais alumínio, alumínio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo.

Os elementos foram determinados de acordo com métodos analíticos descritos em EMBRAPA (1997): pH em água; cálcio e magnésio trocáveis - extração com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, na proporção 1:20 e determinação por espectrofotometria de absorção atômica; acidez trocável - extração com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, na proporção 1:20 e determinação por titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>; acidez potencial (H + Al) - extração com acetato de cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup> tamponado a pH 7,0, na proporção 1:15 e determinação por titulação com NaOH 0,0606 mol L<sup>-1</sup>; potássio trocável - extração com solução de HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025 mol L<sup>-1</sup> (Mehlich) e determinação por fotometria de emissão de chama; fósforo disponível - extração com solução de HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025 mol L<sup>-1</sup> (Mehlich<sup>-1</sup>) e determinação por colorimetria, utilizando-se ácido ascórbico como agente redutor.

O carbono orgânico total (COT) foi determinado pelo método de Yeomans e Bremner (1988), baseado em técnicas de oxidação com dicromato de potássio com aquecimento externo da amostra.

A qualidade do solo foi avaliada considerando quatro funções do solo e atribuídas ponderações de 0,25. Os indicadores de cada função e o peso específico atribuído a eles foram ajustados para o limite crítico do indicador e estão descritos na Tabela 1, selecionados em função da sua importância para o funcionamento e sustentabilidade edáfica, com base nas condições naturais dos solos de mata, que suportam a vegetação nativa e evoluem para um estado de equilíbrio do ambiente.

Os valores determinados para cada indicador são transformados em escores que variam de 0 a 1, por meio das funções de pontuação padronizada que foram definidas ou personalizadas para cada indicador, conforme apresentado a seguir: (1) mais é melhor, indicada para padronizar escores para propriedades do solo em que a qualidade do solo está associada a maiores valores das mesmas; (2) menos é melhor, utilizada para propriedades do solo em que a qualidade do solo está



associada a menores valores das mesmas; e (3) valor ótimo, utilizada para propriedades do solo que tem um efeito positivo crescente na qualidade do solo até um valor ótimo, a partir do qual sua influência é negativa.

A forma das curvas (Figura 1) é gerada da equação de pontuação e determinada pelos valores críticos que incluem os valores limites. Os valores da linha-base são as propriedades do solo onde a função de pontuação é igual a 0,5 e equivale aos pontos médios entre os valores-limites da propriedade do solo considerada. A inclinação da curva de pontuação na linha-base pode ser determinada usando funções otimizadas mediante planilhas eletrônicas (Glover et al., 2000).

Os valores dos parâmetros usados para a construção das funções de pontuação para cada indicador analisado (Tabela 2), com o tipo de curva, os limites críticos superiores e inferiores, o valor ótimo e a declividade das curvas que foram ajustadas para as características do solo de mata tropical, utilizadas como indicadores na definição do IQS das profundidades P1, P2 e P3, considerando para a P1 condições do horizonte A e para P2 e P3 condições do horizonte B, com base nas literaturas da Comissão Estadual de Fertilidade do Solo para recomendação de correção e adubação para o estado da Bahia (1980), da Comissão de Fertilizantes do Solo para o Estado de Minas Gerais para

Tabela 1. Funções principais e indicadores físicos, químicos e biológicos para avaliar a qualidade do solo

Funções	Peso (A)	Indicador 1º	Peso (B1)	Indicador 2º	Peso (B2)
Receber, armazenar e suprir água (RASA)	0,25	Densidade do solo Matéria orgânica Argila Equivalente de umidade Porosidade Total	0,2 0,3 0,3 0,1 0,1		
Promover crescimento das raízes (PCR)	0,25	Densidade do solo Matéria orgânica Acidez /Toxidez de $Al^{3+}$ Nutrientes minerais	0,25 0,25 0,25 0,25	pH H+Al $Al^{3+}$ P K <sup>+</sup> Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup>	  0,33 0,33 0,33 0,4 0,1 0,4 0,1
Armazenar suprir e ciclar nutrientes (ASCN)	0,25	Matéria orgânica CTC pH 7,0 Nutrientes minerais Saturação por $Al^{3+}$	0,25 0,25 0,4 0,1	  P K <sup>+</sup> Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup>	  0,3 0,2 0,3 0,2
Promover atividade biológica (PAB)	0,25	pH Nutrientes minerais Matéria orgânica	0,25 0,25 0,5	 P K <sup>+</sup> Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup>	 0,3 0,2 0,3 0,2

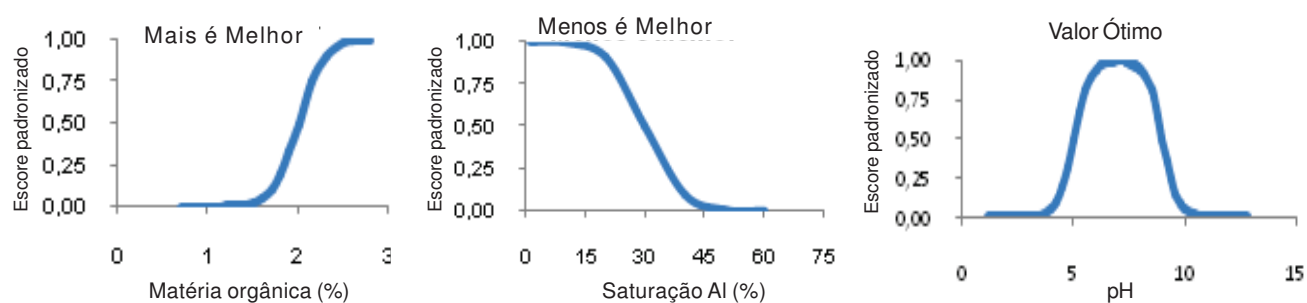


Figura 1. Tipos de funções de padronização de escores utilizadas para cálculo de índice de qualidade do solo (Karlen e Stott, 1994).

Tabela 2. Parâmetros das funções de pontuação dos indicadores de qualidade do solo da área de Mata, Cabruca e Policultivo

Indicador	Tipo de curva	Valores iniciais	Horizontes	Limites críticos		Valores ótimos	Inclinação da tangente da curva
				Inferior	Superior		
Ds (g cm <sup>-3</sup> )	Menos é melhor	0	A / B	1,1			-1,6683
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	Valor Ótimo	0	A / B	300	600	500	0,1251
Sat. por Al <sup>3+</sup> (%)	Menos é melhor	0	A / B	30			-0,0626
Al <sup>3+</sup> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Menos é melhor	0	A / B	0,5			-5,0050
Eq. Umid. (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	Mais é melhor	0	A / B	0,20			0,0834
Pt (%)	Mais é melhor	0	A / B	60			1,1375
pH	Valor Ótimo	0	A	5	9	7	0,5005
		0	B	4	9	6,5	0,5561
P (mg dm <sup>-3</sup> )	Mais é melhor	0	A	10			0,1251
		0	B	2,5			0,1726
CTC (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Mais é melhor	0	A/B	4,5			0,5005
K (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Mais é melhor	0	A	0,40			0,0278
		0	B	0,25			0,0391
Ca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Mais é melhor	0	A	2			0,5005
		0	B	1			0,5005
Mg (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Mais é melhor	0	A	0,5			0,5005
		0	B	0,1			0,5005
H+Al (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	Menos é melhor	0	A	4			-0,6256
		0	B	2			-0,5005
MO (%)	Mais é melhor	0,1	A/B	2			1,7875

recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (1989) e da CEPLAC em Normas para a utilização de fertilizantes e corretivos na região cacaueira (1978).

Faz-se necessária a padronização dos valores observados para os indicadores selecionados, para escores variando de 0 a 1, em razão das diferentes unidades de medição utilizadas para cada um deles. As curvas de definição de escores são geradas com base na equação matemática desenvolvido por Wymore (1993) citado por Glover (2000).

Para aplicar a equação de Wymore, utilizada para padronização dos escores, é necessário calcular a inclinação da tangente da curva de pontuação no valor crítico do indicador, expressado:

$$f(S) = \frac{\log\left(\frac{1}{x}\right) - 1}{\log\left(\frac{B-L}{x-L}\right) \cdot 2(B+x-2L)} \quad (\text{Eq.1})$$

E logo depois aplicar o modelo de equação de Wymore para calcular os valores observados dos indicadores em escores padronizados:

$$v = \frac{1}{1 + ((B-L)/(x-L))^{2s(B+x-2L)}} \quad (\text{Eq.2})$$

onde  $v$  é o escore padronizado,  $B$  é o valor crítico do indicador, cujo escore padronizado é 0,5,  $L$  é o valor inicial,  $S$  é a declividade da tangente da curva no valor crítico do indicador e  $x$  é o valor do indicador observado ou medido.

Após padronização dos indicadores em escores, utilizando o modelo de Karlen e Stott (1994), Souza et al. (2003) propõem que a qualidade do solo ( $Q$ ) seja calculada em duas etapas, como segue:

$$q \text{ } FPN = I_1 \times W_1 + \dots + I_n \times W_n \quad (1^a \text{ etapa}) \quad (\text{Eq.3})$$

$$Q = q \text{ } FPN_1 \times (w_1) + q \text{ } FPN_2 \times (w_2) + \dots + q \text{ } FPN_n \times (w_n) \quad (2^a \text{ etapa}) \quad (\text{Eq.4})$$

onde,  $q \text{ } (FPN)$  são as funções principais estabelecidas,  $I_n$  são os escores padronizados para os indicadores de qualidade associados a cada função

principal,  $W_n$  são os ponderadores associados a cada indicador ou a cada função principal e  $Q$  é o índice de qualidade de solo.

Os escores encontrados de cada indicador foram multiplicados por um peso relativo à importância atribuída. O somatório do produto dos indicadores desta função constituiu no escore da função. Da mesma forma, para cada função, o peso atribuído foi multiplicado pelo escore encontrado da função que constituiu o sub-índice de performance da função do solo. A soma desses sub-índices originou o IQS. A soma dos ponderadores das funções principais e de todos os indicadores associados a uma única função, na metodologia proposta por Karlen e Stott (1994), exige que seja sempre igual a 1. Desse modo, o IQS apresentará valores compreendidos entre 0 e 1.

Portanto, quando um solo preencher todas as funções consideradas importantes o resultado do IQS será 1 ao contrário, quando o IQS é zero ou um valor próximo, indica limitações ou baixa qualidade do solo. Utilizamos uma graduação para o IQS baseado em Souza (2003) que propõe para um IQS menor ou igual a 0,5 ruim, 0,51 a 0,7 regular e acima de 0,71 ótima.

No estudo fitossociológico das áreas caracterizadas como C1 e C2 foram avaliadas as 3 parcelas de 1.250 m<sup>2</sup> (25x50 m), totalizando uma área de 3.750 m<sup>2</sup> em cada cabruca. Sendo as mesmas parcelas onde houve a coleta do solo. Os atributos da cobertura vegetal do dossel superior a serem avaliados e correlacionados com o índice de qualidade do solo nas cabrukas, foram representados pelos dados da vegetação arbórea com diâmetro à altura do peito (DAP)  $\leq 15,0$  cm, a 1,30 m do solo. Estas foram mensuradas e identificadas, e realizada a classificação das espécies.

Foram utilizadas planilhas eletrônicas totalmente associadas do software Excel (versão 2007) para a realização do cálculo dos IQS e respectivas análises estatísticas.

Os IQS foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Para identificar variações nos índices de qualidade do solo, em função do sistema de uso, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, comparando-se as parcelas Cabruca1 x Mata x Policultivo, Cabruca1 x Cabruca2, Cabruca1 x Mata x Cabruca2 x Policultivo, nas profundidades P1, P2 e P3 e na média das três profundidades.



## Resultados e Discussão

### Avaliação da qualidade do solo no Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico nas três áreas do PA Frei Vantui: Cabruca X Mata X Policultivo

Os resultados obtidos para as três parcelas do PA Frei Vantui, a Cabruca 1, a Mata e o Policultivo, instalado em um Argissolo Vermelho-Amarelo, apresentaram na profundidade 1 (0-10 cm) valores de IQS que diferiram, na seguinte ordem decrescente: Cabruca 1(C1) = Policultivo (Po) > Mata (M).

Os solos de mata tem pouca intervenção, boa cobertura vegetal, bem como à presença de serrapilheira, que favoreça fauna do solo, que passam toda ou parte de suas vidas no solo, e em muitas situações tem efeito significativo na estrutura e nas propriedades funcionais do solo (Hendrix, 1999). No entanto verificou-se que a parcela de Mata apresentou o menor valor de IQS, em todas as funções e todas as profundidades em relação a Cabruca e ao Policultivo.

As funções Armazenar, Suprir e Ciclar Nutriente (ASCN) e Promover Atividade Biológica (PAB) apresentaram na profundidade 1 um valor de IQS da Cabruca e do policultivo acima de 0,7 e isto sugere um bom IQS e difere da Mata que apresentou um IQS considerado regular (entre 0,50 e 0,70), podendo-se pressupor que os solos na área de Cabruca e Policultivo sofreram influência do manejo recebido pela cultura implantada.

Os solos da Mata na profundidade 1 apresentaram na função ASCN e PAB um índice de 50% acima dos índices da profundidade 2 e 3, o que indica uma maior concentração de MOS na P1, já que o peso maior das funções ASCN e PAB é a MOS com 0,5 de peso. E pode ser explicada pelo acúmulo de resíduos vegetais na superfície, da matéria orgânica biodegradável e de carbono orgânico do solo, pois ao longo do tempo os métodos de manejo ou uso do solo interferem tanto na quantidade como na distribuição da MO no perfil do solo. Isso coincide com resultados encontrados por Geraldine et al. (1995), em solos tropicais da Amazônia, como também está de acordo com Houghton et al. (1991), para os quais ocorre o declínio no estoque de MOS após conversão de florestas nativas em sistemas agrícolas.

### Avaliação da qualidade do solo entre a Cabruca 1 (Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico) no PA Frei Vantui e a Cabruca 2 (Cambissolo Háplico Distrófico) na Fazenda Hiawatha

Os resultados obtidos para as duas áreas de Cabruca (Tabela 3 e Tabela 4) mostraram que todos os índices de qualidade encontrados na profundidade 1 foram acima de 0,50 e na profundidade 2 e 3 foram menores do que 0,5, na seguinte ordem decrescente: Profundidade 1: C1 (0,6859) > C2 (0,5847); Profundidade 2: C1 (0,3562) > C2 (0,3560) e profundidade 3 C1 (0,3676) > C2 (0,3285). Portanto, a C1 foi a que apresentou maior IQS, o que não era a expectativa inicial em função das avaliações visuais prévias, como cobertura arbórea, estado vegetativo e nutricional dos cacaueiros e ervas indicadoras de aspectos físicos e químicos do solo como o cansaço (*Cnidocolus urens*) característico de solo bom para cultivo de cacau ou samambaia (*Pteridium aquilinum*), Rabo-de-raposa (*Conyza bonariensis*), vassourinha (*Sida acuta*) característicos de solos ácidos, compactados e pobres em matéria orgânica.

Na Tabela 3 verifica-se nas funções PCR, ASCN e PAB que a C2 apresentou valores de IQS menores do que a C1. E que as funções que mais se destacaram na C1 nas três profundidades foram a ASCN e PAB. Considerando que os Nutrientes Minerais e a MOS tem um peso maior nestas funções (Tabela 1) as quantidades encontradas disponíveis no sistema foi fator preponderante para as diferenças verificadas nas cabrucas.

### Avaliação da qualidade do solo na Cabruca 1 x Cabruca 2 x Mata x Policultivo

Os valores encontrados do IQS apresentaram diferenças na profundidade P1 (0-10 cm) comparados com os IQS das profundidades de P2 (10-30 cm) e P3 (30-50 cm) (Tabela 4). Comparando-se os IQS por profundidade observa-se que houve uma mudança muito abrupta entre a P1 e as demais profundidades (P2 e P3). Fato que se repetiu na Cabruca 1 e na Cabruca 2 com uma diferença menor.

Houve diferença significativa no valor do IQS, entre as áreas avaliadas em cada profundidade. A Mata teve o menor valor de IQS, abaixo do limite crítico de 0,5,

Tabela 3. Valor do IQS das funções principais nas áreas de Cabruca 1, Cabruca 2, Mata e Policultivo nas profundidades P1, P2 e P3

Profundidade 1 - 0-10 cm								
Funções	C1		M		Po		C2	
RASA	0,5179	19	0,4186	22	0,4622	17	0,7408	32
PCR	0,6365	23	0,4114	22	0,6461	24	0,4050	17
ASCN	0,8091	30	0,5441	28	0,7562	29	0,5904	25
PAB	0,7799	28	0,5343	28	0,7863	30	0,6026	26
<b>IQS</b>	<b>0,6859</b>	<b>a</b>	<b>0,4771</b>	<b>c</b>	<b>0,6627</b>	<b>ab</b>	<b>0,5847</b>	<b>B</b>
Profundidade 2 - 10-30 cm								
Funções	C1		M		Po		C2	
RASA	0,2888	20	0,1214	16	0,2755	24	0,5599	40
PCR	0,2661	19	0,1559	21	0,2241	19	0,2292	16
ASCN	0,5201	36	0,2322	32	0,3894	33	0,3461	24
PAB	0,3498	25	0,2253	31	0,2799	24	0,2888	20
<b>IQS</b>	<b>0,3562</b>	<b>a</b>	<b>0,1837</b>	<b>b</b>	<b>0,2922</b>	<b>a</b>	<b>0,3560</b>	<b>A</b>
Profundidade 2 - 10-30 cm								
Funções	C1		M		Po		C2	
RASA	0,3986	27	0,2982	33	0,3668	32	0,5440	41
PCR	0,2773	19	0,1353	15	0,1690	15	0,2181	17
ASCN	0,4547	31	0,2513	28	0,3351	30	0,3060	23
PAB	0,3397	23	0,2205	24	0,2630	23	0,2461	19
<b>IQS</b>	<b>0,3676</b>	<b>a</b>	<b>0,2639</b>	<b>b</b>	<b>0,2834</b>	<b>ab</b>	<b>0,3285</b>	<b>ab</b>

RASA = Receber, armazenar e suprir água, PCR=Promover o Crescimento das Raízes,ASCN=Armazenar suprir e ciclar nutrientes, PAB= Promover atividade biológica

Letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 4. Índice de Qualidade do Solo das áreas de Cabruca 1, Cabruca 2, Mata e Policultivo, nas três profundidades (P) P1, P2 e P3

Profundidade	Áreas							
	C1		M		Po		C2	
P1 (0 - 10 cm)	0,6859	a	0,4771	c	0,6627	ab	0,5847	b
P2 (0 - 10 cm)	0,3562	a	0,1837	b	0,2922	a	0,356	a
P3 (0 - 10 cm)	0,3676	a	0,2639	b	0,2834	ab	0,3285	ab

Letras iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

sendo considerado baixo IQS em todas as profundidades e diferindo estatisticamente P1 e P2, mas diferindo apenas de C1 na P3.

Os solos de C2, C1, Po, apresentaram na P1 valores de IQS entre 0,58 e 0,69, o que é considerado um valor regular. Quando se compara os IQS de cada área analisada (Cabruca 1, Cabruca 2, Mata e Policultivo) nas profundidades P2 e P3, visualiza que os valores de IQS estão todos abaixo de 0,5, sendo considerados

baixo. Em nenhuma profundidade obteve-se um valor de IQS acima de 0,8, o que seria considerado bom.

A partir daí é importante a análise das funções e dos indicadores da função que provocaram estas alterações no perfil do solo (Tabela 3).

Na C1 e no Po a função armazenar, suprir e ciclar nutrientes (ASCN) o valor do IQS foi o mais elevado em relação às outras funções e em relação às outras áreas em estudo nas três profundidades.

Na Tabela 3 observa-se que o menor valor de IQS foi o da Mata na P2, resultado dos baixos índices das funções RASA e PCR. De forma geral, este baixo valor de IQS encontrado nas áreas, indica a precária fertilidade química do solo em todas as áreas amostradas.

Os solos avaliados, mostraram-se relativamente homogêneos quanto ao índice de qualidade de solo (IQS). Em todos os sistemas de uso do solo o IQS foi abaixo de 0,5, refletindo baixa fertilidade e limitações físicas, conferindo para estes solos baixa condição natural para produção vegetal. Estes resultados estão de acordo com Primavesi (1980) e Alvim (2002) em relação aos solos tropicais de região úmida, sob condições predominantemente ácidos e pobres em reserva de minerais.

### Avaliação da influência da cobertura arbórea da cabruca na qualidade do solo

Na cabruca 1 (PA Frei Vantui), na área das três parcelas (3750 m<sup>2</sup>), foram encontrados 33 indivíduos, pertencentes a 12 espécies e 10 famílias (Tabela 5). A espécie que apresentou maior DAP (365 cm) foi o *Ficus gomelleira*. A maior frequência (21%) foi da espécie *Artocarpus heterophyllus* e *Spondias lútea*. A família Moraceae apresentou o maior número de indivíduos (12), e o maior número de espécies (2). Foram incluídos na contagem cinco indivíduos na forma de hemiepífita, pertencentes à espécie *Ficus gomelleira*.

Nas três parcelas (3750 m<sup>2</sup>) da cabruca 2 (Fazenda Hiawatha), encontrou-se um total de 33 indivíduos,

Tabela 5. Cobertura vegetal arbórea na Cabruca 1 (PA Frei Vantui) e na Cabruca 2 (Fazenda Hiawatha)

Área	Família	Nome Popular	Nome Científico	%	Quant.	Média dap/cm
Cabruca 1	Annonaceae	Jangada-Preta	<i>Rollinia laurifolia</i>	12	4	94
	Anacardiaceae	Cajá	<i>Spondias lutea</i>	21	7	97
	Araliaceae	Matatauba	<i>Schefflera morototoni</i>	6	2	72
	Bignoniaceae	Pau D'arco	<i>Tabebuia sp.</i>	3	1	117
	Lecythidaceae	Sapucaia	<i>Lecythis pisonis</i>	3	1	264
	Leg.Caesalpinoideae	Cobi	<i>Senna multijuga</i>	3	1	54
	Leg.Caesalpinoideae	Pinho	<i>Schizolobium parahyba</i>	3	1	192
	Meliaceae	Cedro	<i>Cedrela fissilis</i>	3	1	90
	Moraceae	Gameleira	<i>Ficus gomelleira</i>	15	5	365
	Moraceae	Jaqueira	<i>Artocarpus heterophyllus</i>	21	7	115
	Rubiaceae	Jenipapo	<i>Genipa americana</i>	3	1	117
	Simaroubaceae	Pau Paraíba de espinho	<i>Simarouba versicolor</i>	6	2	28
<b>10 famílias</b>		<b>12 espécies</b>			<b>33</b>	<b>134</b>
Cabruca 2	Anacardiaceae	Aderno	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	3	1	389
	Caricaceae	Mamão-de-Veado	<i>Jacaratia heptaphylla</i>	3	1	175
	Elaeocarpaceae	Gindiba	<i>Sloanea obtusifolia</i>	3	1	435
	Euphorbiaceae	Seringa	<i>Hevea brasiliensis</i>	3	1	80
	Lauraceae	Abacate	<i>Persea americana</i>	3	1	42
	Lecythidaceae	Sapucaia	<i>Lecythis pisonis</i>	6	2	292
	Leg.Caesalpinoideae	Pau Brasil	<i>Caesalpinia echinata</i>	18	6	164
	Leg.Caesalpinoideae	Óleo Comumba	<i>Macrolobium latifolium</i>	3	1	222
	Leg. Mimosoideae	Vinhático	<i>plathymenia faliosa</i>	12	4	202
	Leg. Mimosoideae	Ingá	<i>Inga sp.</i>	3	1	40
	Leguminosae-Papilionoideae	Pau Sangue	<i>Pterocarpus rhorii</i>	12	4	218
	Leguminosae-Papilionoideae	Jacarandá-da-Bahia	<i>Dalbergia nigra</i>	9	3	29
	Leguminosae-Papilionoideae	Putumuju	<i>Centrolobium robustum</i>	3	1	91
	Meliaceae	Cedro	<i>Cedrela fissilis</i>	3	1	108
	Meliaceae	Jaqueira	<i>Arthorcarpus heterophyllus</i>	15	5	93
<b>10 famílias</b>		<b>15 espécies</b>			<b>33</b>	<b>172</b>



pertencentes a 15 espécies e 10 famílias. A espécie que apresentou maior DAP (435 cm) foi o *Sloanea obtusifolia*. A maior frequência (18%) foi da espécie *Caesalpinia echinata*. A família Leguminosae apresentou o maior número de indivíduos (20), e o maior número de espécies (7).

Observa-se que as áreas de cabruca apresentaram um menor número de espécies comparadas com áreas de floresta nativa. E ocorre invasão de espécies pioneiras, secundárias e exóticas. Entre as 27 espécies encontradas, 20 são naturais das florestas primárias da região. Algumas espécies, porém, apresentam indivíduos jovens, mostrando que conseguem se reproduzir na cabruca.

Do total das espécies observadas, apenas três, o cedro (*Cedrella fissilis*), a sapucaia (*Lecythis pisonis*) e a jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*) apresentaram ocorrência comum às duas áreas.

Dentre todas as espécies observadas, evidenciam-se *Caesalpinia echinata* (pau-brasil), *Ficus gomelleira* (gameleira) e *Artocarpus heterophyllus* (jaqueira). Pau-brasil é a espécie mais importante, não só pelo valor cultural-econômico, mas também por estar listada pelo IBAMA (1992), como uma espécie em extinção.

A *F. gomelleira* apresentou boa distribuição e, normalmente, os levantamentos feitos na região detectam suas ocorrências, tais como os de Alvim (1966), Vinhas e Silva (1982), entre outros. Sambuichi (2002) observou que as espécies acima citadas encontravam-se entre as quatro mais abundantes em uma área de cacau-cabruca no Município de Ilhéus, BA.

Os resultados obtidos para a diversidade são compatíveis aos obtidos em outras áreas e chegam a ser comparáveis às áreas consideradas ricas em diversidade de espécies. Entre elas, podem ser citados os resultados obtidos por Sambuichi (2002) da diversidade de espécies em uma área de cacau-cabruca em Ilhéus, BA.

Relacionando estes estudos com os dados encontrados entre C1 e C2 observa-se que a C2 apresentou uma maior quantidade de espécies, maior média do DAP (172 cm), maior quantidade de espécies de valor econômico, sua aparência é de uma área que mais se assemelha a uma floresta natural, entretanto ela tem um IQS menor em relação a C2 na profundidade 1, que é a que mais é influenciada pelo folheto das árvores (Tabela 6).

Tabela 6. Resumo dos valores de IQS, N° de árvores, espécies, famílias e média dos DAP da Cabruca 1 e Cabruca 2

Cabruca	N° de árvores	N° de espécies	N° de famílias	Média DAP	IQS profundidade 1
C1	33	13	10	1,23	0,6859
C2	33	15	10	1,72	0,5847

## Conclusões

A avaliação realizada nas quatro áreas com diferentes coberturas mostrou que:

- Os índices de qualidade do solo encontrados apresentaram uma variação na ordem decrescente Cabruca 1 > Policultivo = Cabruca 2 > Mata;
- De maneira geral, os solos avaliados apresentam baixos níveis de fertilidade e caráter distrófico;
- O modelo de IQS se mostrou eficiente, para avaliar o solo sob diferentes condições e coberturas.

## Literatura Citada

- ALVIM, P. de T. 1966. O problema do sombreamento do cacauzeiro. *Cacau Atualidades* (Brasil) 3(2): 2-5.
- ALVIM, P. de T. 2002. Solos nos trópicos úmidos e sua utilização. In: Araujo, Q. R. 500 anos de uso do solo no Brasil. Ilhéus, BA, Editus. pp.291-310.
- BURGUER, J. A.; KELTING, D. L. 1999. Using soil quality indicators to assess forest stand management. *Forest Ecology and Management* 122:155-166.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. CENTRO DE PESQUISA DO CACAU. SETOR DE FERTILIDADE. 1978. Normas para utilização fertilizantes e corretivos na região cacaueira da Bahia. Ilhéus, BA, CEPLAC/CEPEC. 74p.
- CHAER, G. M. 2001. Modelo para determinação de índice de qualidade do solo baseado em indicadores físicos, químicos e microbiológicos. Dissertação Mestrado. Viçosa, MG, UFV. 89p.

- COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS – CFSEMIG, 1989. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 4ª aproximação. Lavras.
- DERPSCH, R. 2000. Expansão mundial do plantio direto. *Revista Plantio Direto (Brasil)* 59(1):32-40.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. 1994. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J.W. et al. eds. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Soil Science Society of America 35:3-22.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS 1997. Manual de métodos de análise do solo. Rio de Janeiro, RJ, EMBRAPA/CNPQ. 212p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. 2013. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3 ed. Brasília, DF, Embrapa. 353p.
- EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DA BAHIA .1980. Recomendações de adubação para o estado da Bahia - 1ª aproximação. Salvador, EMATERBA. Programas e Projetos nº 9. 89p.
- GERALDES, A. P. A.; CERRI, C. C.; FEIGL, B. J. 1995. Biomassa microbiana dos solos sob pastagens na Amazônia. *Revista Brasileira de Ciências do Solo* 19:55-60.
- GLOVER, J. D. et al. 2000. Systematic method for rating soil quality of conventional, organic, and integrated apple orchards in Washington State. *Agriculture Ecosystems & Environmental* 80:29-45.
- HENDRIX, P. F. 1999. Soil fauna. In: Summer, M. E. ed. *Handbook of Soil Science*. Boca Raton, CRC Press. pp.229-276.
- HOUGHTON, R. A., SKOLE, D. L., LEFKOWITZ, D. S. 1991. Changes in the landscape of Latin America between 1850 and 1985. *Forest Ecology and Management* 38:173-199.
- IBAMA. 1992. Lista oficial de espécies da Flora Brasileira ameaçada de extinção. Sociedade Brasileira de Botânica. 175p.
- KARLEN, D. L.; STOTT, D. E. 1994. A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: Doran, J. W. et al. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, Soil Science Society of American/American Society of Agronomy.
- LOBÃO, D. et al. 1997. Cacao Cabruca: um modelo sustentável de agricultura tropical. *Indícios Veementes (Brasil)* 3(nº Esp.):10-24
- PRIMAVESI, A. 1980. Manejo Ecológico do Solo. Agricultura em regiões Tropicais. 3 ed. São Paulo, SP, Livraria Nobel. 541p.
- SAMBUICHI, R. H. R. 2002. Fitossociologia e diversidade de espécies arbóreas em cabruca (mata atlântica raleada sobre plantação de cacau) na Região Sul da Bahia, Brasil. *Acta Botânica Brasílica (Brasil)* 16(1):89-101.
- SOUZA, L. S. et al. 2003. Indicadores físicos e químicos de qualidade do solo sob o enfoque de produção vegetal: estudo de caso para citros em solos coesos de tabuleiros costeiros. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 29º. Ribeirão Preto, SP, UNESP, SBSCS. CD-ROM.
- SPOSITO, G.; ZABEL, A. 2003. The assessment of soil quality. *Geoderma* 114(3/4):143-144.
- VELOSO, H. P. et al. 1991. A classificação brasileira, adaptada a um sistema universal. Rio de Janeiro, RJ, IBGE. 123p.
- VINHA, S. G. DA; SILVA, L. A. M. 1982. Árvores aproveitadas como sombreadoras de cacauzeiros no sul da Bahia e norte do Espírito Santo. Ilhéus, BA, CEPLAC/CEPEC. 136p.
- YEOMANS, J. C., BREMNER, J. M. 1988. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 19(3):1467-1476.
- ZILLI, J. et al. 2003. Diversidade Microbiana como Indicador de Qualidade de Solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia (Brasil)* 20(3):391-411.

## CHARACTERIZATION OF A MANGROVE SOIL IN THE GRACIOSA RIVER ESTUARY, IN BAHIA, BRAZIL: HIGHLIGHTING HEAVY METALS AND MICROBIAL POPULATIONS

*Quintino Reis Araujo<sup>1,2</sup>, Raquel Lima Oliveira Krause<sup>2</sup>, Sandoval Oliveira Santana<sup>1</sup>, Taiana Guimarães Araujo<sup>2</sup>, José Resende Mendonça<sup>1</sup>, Aldo Vilar Trindade<sup>3</sup>, Kimberly Yvonne Epps<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Cocoa Research Center / CEPLAC, Jorge Amado Highroad, km 22, P.O.Box 07, 45600-970, Ilhéus, Bahia, Brazil. E-mail: quintino@cepec.gov.br; <sup>2</sup>State University of Santa Cruz – UES, Jorge Amado Highroad, km 16, 45662-900, Ilhéus, Bahia, Brazil; <sup>3</sup>Brazilian Agricultural Research Corporation – EMBRAPA (Embrapa Street, s/n, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brazil); <sup>4</sup>Stanford University, Environmental Earth System Science (473 Via Ortega, Stanford, CA 94305-4216, USA).

Mangrove soils have unique properties, able to transform and sequester chemical compounds of biogeochemical and ecological importance, including heavy metals. The degeneration of mangrove soils shows the risk of releasing these metals to the environment. We search for improve the knowledge about how disturbance affects the metal fixation and microbial of mangrove soils. This study characterized a mangrove soil along the Graciosa River estuary (Bahia, Brazil), according to selected physical, chemical and microbiological properties. In 2002, soil was collected from an anthropic and from an adjacent natural site. Both sites were re-sampled in 2007, after a vegetal regeneration on the anthropic site. Significant differences between the natural and anthropic surface layers were observed for chemical and physical soil properties. In particular, heavy metals (Co, Cr, Cu, Zn, Ni, Mn and Fe) showed significant differences with depth and lower concentrations were found in the anthropic site, exception to Cd (moderately high). Between 2002 and 2007, the disturbed site showed a decrease for all observed metals, except for Ni. The data also suggest that microbial populations may be favored in the layers of the soil profile most influenced by high and low tides, C1 (0-20 cm) and C5 (99-125 cm).

**Key words:** Gleysol, physical and chemical characteristics, trace elements, microorganisms.

**Caracterização de um solo de mangue no rio graciosa, na Bahia, Brasil: destacando metais pesados e populações microbianas.** Os solos de mangue têm propriedades particulares, sendo capazes de transformar e remobilizar compostos químicos de importância biogeoquímicos e ecológicos, incluindo metais pesados. A degeneração de solos de mangue tem o risco de liberar estes metais para o ambiente. Procura-se melhorar o conhecimento sobre como as perturbações afetam a fixação de metais e a microbiota de solos de manguezal. Este estudo caracterizou um solo de manguezal no estuário do rio Graciosa (Bahia, Brasil), de acordo com algumas propriedades físicas, químicas e microbiológicas. Em 2002, o solo foi coletado a partir de um área antropizada e de outra natural adjacente. Ambas as áreas foram re-amostradas em 2007, após regeneração vegetal naquela antropizada. Diferenças significativas entre as camadas superficiais antropizada e natural foram observadas para as propriedades químicas e físicas do solo. Em particular, os metais pesados (Co, Cr, Cu, Zn, Ni, Mn e Fe) mostraram diferenças significativas com a profundidade e concentrações mais baixas foram encontradas na área antropizada, com exceção do Cd (moderadamente alto). Entre 2002 e 2007, a área antropizada mostrou diminuição para todos os metais observadas, exceto para Ni. Os dados também sugerem que as populações microbianas podem ser favorecidos nas camadas do perfil do solo mais influenciadas pelas marés altas e baixas, C1 (0-20 cm) e C5 (99-125 cm).

**Palavras-chave:** Gleissolo, características físicas e químicas, elementos traços, microorganismos.

## Introduction

The world's mangroves encompass approximately 172,000 km<sup>2</sup> distributed along the coast of tropical and subtropical regions, and in Bahia, Brazil, their extent is estimated at 800 km<sup>2</sup>, distributed over nearly 1,000 km of coastline (Ramos, 2002), where the largest mangrove forests are located in the cities of Caravelas, Canavieiras and between Valença and Marau. A majority of works related to mangroves has been limited to the interaction between the distribution of vegetation and soil nutrition in this ecosystem. Few studies focus on the pedology and physical, chemical and microbiological properties of mangroves. The study and characterization of mangrove soils allow evaluations of the edaphic and ecological interaction of this ecosystem, as well as the definition of better strategies for the sustainable management of this environment. It also enables the understanding of self-regulation and evolution processes of a system under disturbance.

Urban development in coastal regions impose dual stresses on mangrove ecosystems: the clearing of mangrove forests for construction or agriculture activities, and the enrichment of mangroves with wastes, including heavy elements. The total concentration of metals in the soil, which are usually present as trace elements, can be attributed to the soil parent material as well as the impact of human activities (Paul et al., 1994). The main anthropogenic sources of heavy metals, in addition to the natural ones, have been related to urban effluents (mainly for Cr, Cu, Pb, Zn, Mn and Ni), burning of fossil fuels (Cu, Ni, Pb), beneficiation industries of iron and steel (Cr and Zn), fertilizers (Cu, Fe, Mn, Ni and Zn) and tailings deposits (Zn, Mn and Pb) (Förstner; Wittman, 1993).

Because the behavior of heavy metals in mangroves is highly dependent on physicochemical characteristics of their sediments and as the vegetation cover also influences these aspects, the type of vegetation can alter the characteristics of the sediments and hence their ability to retain heavy metals, also taking into account that sediments express the various processes that occur in the drainage basin of a water system.

The large accumulation of sediment and debris brought by the rivers and sea contributes to a constant expansion of mangroves, and the dynamic and unstable nature of their soil, due to the constant deposition of

sea sand and riverine soil rejuvenation, with alluvial and lacustrine deposition (Rossi and Mattos, 2002). The mechanisms governing the dynamics of sediment in estuarine areas are directly related to hydrodynamic aspects. The effect of oceanic tides is variable along the mangrove, because some areas are inundated daily while others are only affected by large tidal variations (Herz, 1991). This variation in mangrove inundation frequency by the ocean tides can lead to differences in concentrations of salt, sediment, nutrients, heavy metals, and others. The highest salinities occur in mangroves near to the sea where there is dominance of sodium and chloride, while the mangrove forests near to rivers present a lower salt concentration (Soares et al., 2000).

In the state of Bahia, Brazil, notably in its Southern region, the lack of studies on estuarine areas is considerable. In this context, this study aimed to characterize a mangrove soil of the Graciosa River estuary in the region of Valença/Taperoá, Bahia, Brazil according to their physical, chemical (including heavy metals) and microbiological properties (quantification of fungi, bacteria and mycorrhizae). Furthermore, we compared, over an interval of five years, edaphical changes in the mangrove soil related to the regeneration of vegetation cover.

## Materials and Methods

### Study Site

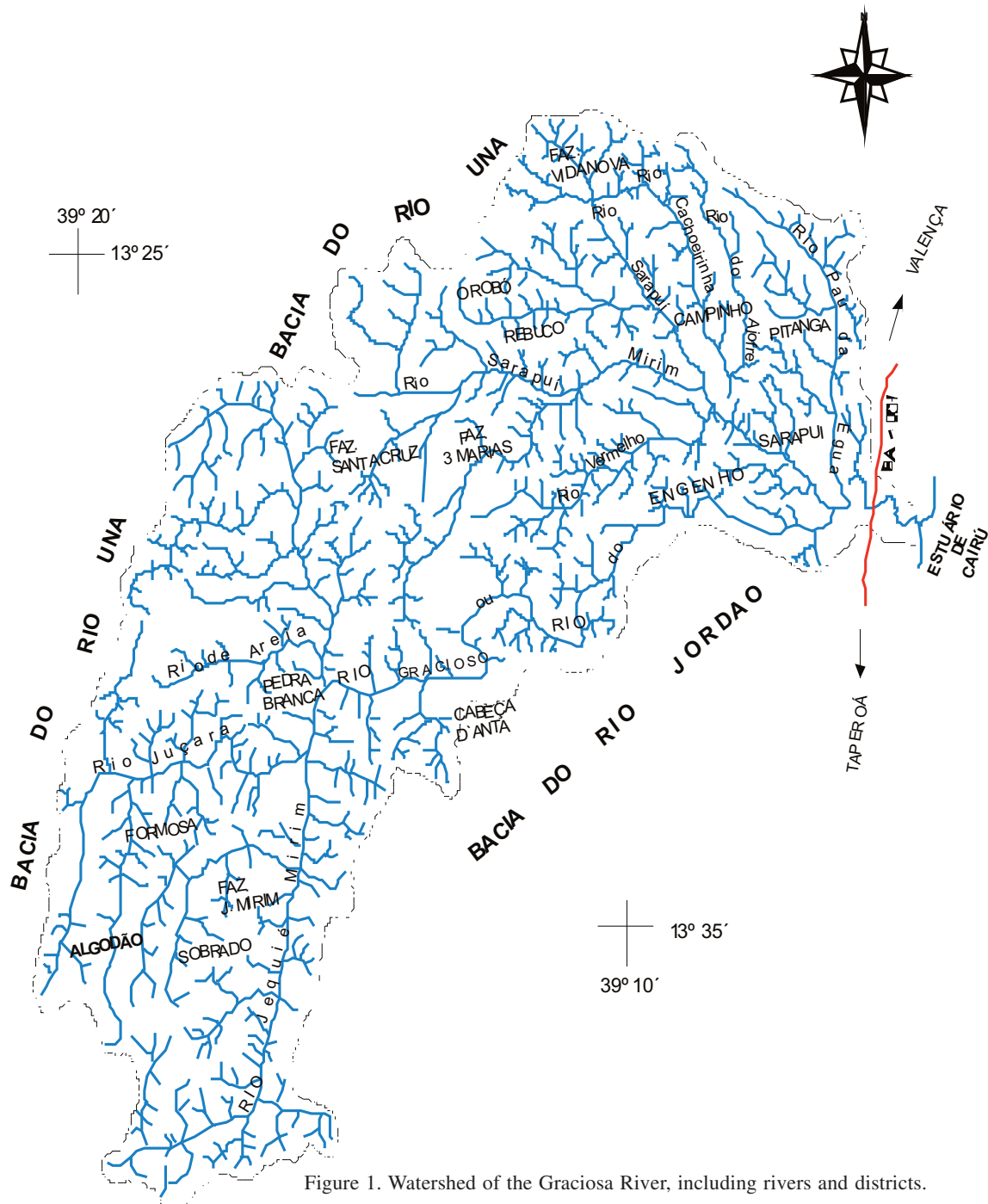
The studied area is located at the mouth of Graciosa River, bordered by the municipal districts of Valença and Taperoá, in the South Recôncavo region of the state of Bahia (13°29'56"S and 39°05'49" W), at an altitude of 2 m with flat, gently undulating topography. The climate according to Thornthwaite is tropical humid, with a hydrologic index greater than 80%. Rain occurs from January to December with a maximum annual precipitation of 2,600 mm and minimum of 2,000 mm (SEI, 2003). The maximum temperature is 31.4° C, and minimum of 21.8° C with a mean temperature of 25.3° C. Abundant and regular rainfall ensure the wealth of water resources in the region.

The watershed in which the study site is located had not been well described and mapped until now.



Thereby, the following information is primary data. The drainage area of the Graciosa River watershed is of 384.9 km<sup>2</sup> and forms a dendritic pattern. This basin originates at the headwaters of the Juçara River, at an altitude of ca. 397 meters and reaches its lowest level on the coastal plain of Taperoá city at an elevation of 8.23 meters (SEI, 2003). It encompasses the rivers

Vermelho and Sarapui-Mirim in the west, Graciosa or Engenho in the south, and Sarapui, Cachoeirinha, Ajofre and Pau da Léguas in the north (Figure 1). The watershed is bounded to the east by the Atlantic Ocean, by the Una River on the north, by the Batateira/Piau River (tributaries of Una River) on the west and the Ermitão do Refugio/Camurugi River to the south.



Topography of the Valença district is characterized by marine and fluvial-marine plains, interior and coastal terraces and foothills, giving rise to flat relief (with elevations ranging from 0-100 m); undulating relief (with altitudes ranging from 100 to 200 m); and strongly undulating relief (hills and mountains, with relative altitudes ranging from 300 to 400 m). Soils described in the region are composed of silicate, crystalline and amorphous minerals as well as oxides and hydroxides of aluminum, iron and titanium (Santana et al., 2005).

### **Economical characterization of the Graciosa River Watershed**

According to data from field surveys, obtained on visits and interviews with resident farmers, rural communities, and local technicians, it was found that the Graciosa River watershed has great economic importance for the region, mainly for the cities of Taperoá and Valença. These two districts are supplied by rivers that form this basin and use its waters for various purposes: water supply, agriculture/livestock, fisheries, navigation, and tourism/leisure activities. The predominant economical activity is diverse agriculture. Agroforestry systems are commonly practiced with emphasis on the cultivation of oil palm, cocoa, coconut, rubber tree, cassava, cloves, guarana, black pepper, annatto, peach palm, mangosteen and macadamia nuts, with little use of agricultural inputs (fertilizers/pesticides). Fishing and livestock activities were also recorded, the latter being of little importance, since most of the grazing areas are degraded. Livestock, mainly cattle, is practiced in mixed pastures, in many cases, with oil palm.

### **Sampling**

The study site was situated in a previously deforested area that had been amended with externally derived soil for the development of farming activities. The area of the study plot, of approximately 20 m x 20 m, also received the addition of an unknown quantity and composition of chemical fertilizers.

The first samples were collected in November 2002, during low tide, in a trench 2 m from and parallel to the river, in a region of riparian forest. The study site was approximately 2.5 km from the mouth of the river. Simple samples were collected in triplicate in the

following identified soil horizons: C1<sub>p</sub> (0-20 cm, “p” meaning *disturbed layer*), C2 (20-41 cm), C3 (41-65 cm), C4 (65-99 cm), C5 (99-125 cm). Soil samples were similarly collected in the top 0-20 cm (C1<sub>n</sub>) of an adjacent and undisturbed, still forested area 30 m away. The surface horizons (0-20 cm) of both sites were sampled again in May 2007, over which time the disturbed site, since abandoned, showed advanced regeneration of specie *Rhizophora mangle* L.

### **Soil Classification, Physical and Chemical Properties**

**Pedology** – The pedological description and characterization of the soil in the field was performed according to Lemos and Santos (1996) and color identification was based on the Munsell Color scheme (2000).

**Physical and Chemical Properties** – The physical (particle-size, equivalent humidity, particle density and bulk density) and chemical properties (pH, C, N, P, K, Ca, Mg, Na, Al concentrations) were determined using methods described in Embrapa (1997), Yeomans and Bremner (1988), Klute (1986) and Page et al. (1982). Basically the performed determinations were the following: particle-size by the pipette method; equivalent humidity by submitting a wet soil sample to a centrifugation of 1000 times the gravity; particle density by the method of alcohol and volumetric balloon; bulk density by using a cylindrical ring of 50 cm<sup>3</sup>; pH was measured on the suspension soil:water, 1:2.5; C by oxidation through the wet way with K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> in sulfur solution; N following the Kjeldahl semi-micro method of digestion/oxidation; P, K and Na by extracting in Mehlich1 and then analyzing P by spectrophotometer and K and Na by direct method of flame photometry; Al, Ca e Mg were extracted by KCl 1M, and then Al was titrated with NaOH (volumetric method) and Ca and Mg were titrated with EDTA (complexometric method).

**Heavy Metals** – Heavy metal concentrations (Cd, Co, Cr, Cu, Zn, Ni, Mn and Fe) were determined by aqua regia digest of soil subsamples, which had been previously sieved to < 2 mm and then crushed to a fine powder (McGrath and Cunliffe, 1985). Metal

concentrations in the digests were determined by ICP spectrometry.

**Bacterial and Fungal Populations** – Bacterial and fungal populations were determined by the dilution plate technique described by Wollum II (1982). The number of colony-forming units (CFU) capable of growth in the particular medium was calculated by: CFU/g soil = (number of colonies x final dilution)/g dry soil.

**Mycorrhizae** – Spores of mycorrhizal fungi were separated from soil subsamples by decanting and wet sieving followed by sucrose centrifugation according to the method described by Sylvia (1994), as following: 25 g of soil were placed in a beaker with 2 L of water and 2-3 drops of liquid soap. The mixture was vigorously stirred for 30 seconds, and then the sand was decanted for 10-15 seconds. The supernatant was passed through sieve < 1.00 mm and < 45 µm. Spores retained on the filter were transferred to centrifuge tubes 50 ml, filled up to 2-3 cm from the top with distilled water and then centrifuged at 1500 rpm for 4 min, carefully decanting the supernatant. The supernatant organic matter adhered to the upper wall of the tubes was discarded. The tubes were filled to 2-3 cm from the top with a solution of cold sucrose 40% and centrifuged at 1500 rpm for 2 min. The centrifuge was stopped to minimize the residence time of spores in sucrose solution due to the damage by osmotic potential. The supernatant was filtered to collect the spores, which were then rinsed gently with water, and arranged in a Petri dish for subsequent observation and measurement in a composite microscope.

### Statistical Analysis

The means of the microbiological parameters and heavy metals from the five layers of the disturbed site and the top layer of the undisturbed site from soils sampled in 2002 were compared using the Scott Knott test ( $p < 0.10$ ). Average values of physical and chemical parameters and heavy metal concentrations of the disturbed soil were compared between the 2002 and 2007 sampling dates. The average values of chemical and physical parameters were also correlated with microbiological data by simple linear correlation test. Data were analyzed by the statistical software SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) version 9.1 (SAEG, 2010).

## Results and Discussion

### Soil Characterization

The studied soil was classified as a Tropaquept (Gleissolo Sáfico Sódico argissólico according the Brazilian soil classification) with the following characteristics: silty clay texture; high organic matter content; high C/N ratio; high cation exchange capacity and high base saturation; strongly acidic pH; and high expandability (data presented in the Tables 1 and 2). The sodic designation is given to soils that present, at some horizon or layer within 100 cm of the soil surface, sodium saturation  $e''$  15% of the total cation exchange capacity (Embrapa, 2013). In this case, the undisturbed soil has in the layer C2 (20-41 cm), a sodium saturation of 16% and water-soluble salts within 100 cm of the soil surface, which defines it as salic.

### Physical Parameters

From the physical analysis data obtained in 2002 (Table 1), the studied soil were dominated by the finer fractions (clay, silt). The highest concentrations of clay occurred in the most superficial layers (C1n, C1p, C2) and for silt in the deepest layers (C3, C4, C5). This textural distribution was also observed by (Clark, 1998) and may indicate a change in the sedimentation regime of the mangrove, with less transport energy and deposition of sediments in more recently deposited layers.

Observing the data for the 0-20 cm layer shown in Table 3, after a five-year interval, significant differences were found between the layers for all the physical attributes, with exception of silt and particle density, which did not differ, suggesting that the studied mangrove has a predominant deposition of finer fractions of sediments. The decrease in moisture observed in May 2007 reflects a decrease of the rainfall in the region, which corresponds, according to local farmers, to the less rainy period. While the disturbance of clearing and cultivation initiated the loss of clay, the five-year abandonment of the area permitted the accumulation of this particle size fraction.

The high silt/clay ratio observed (Table 1) suggests that the silty material deposited in the alluvial plain is in the initial stage of weathering, since the lower the silt/clay ratio is, the more weathered is soil (Embrapa,

2006). This is probably due to the recent age of the source material (sediments of the Holocene).

Frequently the mangrove soils have a gley aspect, without clear differentiation of horizons, having low concentrations of calcium, alkalis and trace elements, and high content of salts from seawater or from sulfur compounds (Marius and Lucas, 1991). Geologically, these soils exhibit composition of kaolinite, mica, illite, smectite in clay fraction and feldspar and quartz in the silt fraction. The variations in tone (pedological

characterization), according to Embrapa (2006), can be explained by the higher concentration of organic matter in the surface layers and also due to changes of the redox conditions in the sediment (Fe, Mn), from oxidizing to reducing, a typical situation of wetlands and anaerobic environments. Hydromorphic conditions do not favor intensive weathering of parent material, explaining the presence of primary minerals such as potassium feldspar and muscovite, with silt from detrital allochthonous or autochthonous sources.

Table 1. Physicochemical properties of the studied mangrove soil (Tropaquet) along the Graciosa River

Horiz.	cm		Particle size				WEC (g. kg <sup>-1</sup> )	DF (%)	BD	PD	TP (dm <sup>3</sup> /dm <sup>-3</sup> )	Silt: Clay	EH (g. kg <sup>-1</sup> )
			CS	FS	SI	C							
			(g.kg <sup>-1</sup> )						(g dm <sup>3</sup> )				
C <sub>1n</sub>	0–20	76	136	336	452	113	75	1.2	2.4	0.5	0.7	106.8	
C <sub>1p</sub>	0–20	157	198	311	334	80	76	-	2.4	-	0.9	-	
C <sub>2</sub>	20–41	114	169	328	389	75	81	1.0	2.4	0.6	0.8	156.8	
C <sub>3</sub>	41–65	74	229	359	339	41	88	1.1	2.5	0.6	1.1	124.3	
C <sub>4</sub>	65–99	58	243	365	334	42	87	1.3	2.6	0.5	1.2	105.5	
C <sub>5</sub>	99–125	80	293	395	223	38	83	-	2.6	-	1.8	-	

Horiz.	OM	OC	N	C:N	pH		Sorptive Complex						SB	CEC	V	m
					Ca	Mg	K	Na	Al	H						
	(g.kg <sup>-1</sup> )				H <sub>2</sub> O	KCL	(cmol <sub>e</sub> kg <sup>-1</sup> )								(%)	
C <sub>1n</sub>	117	67.9	4.1	17	5.0	4.7	7.6	16.2	1.2	4.1	0.7	7.7	29.1	37.5	78	2
C <sub>1p</sub>	96	55.8	4.1	14	4.7	4.2	9.2	17.5	1.2	1.1	1.0	8.7	29.0	38.7	75	3
C <sub>2</sub>	109	62.9	3.3	19	3.9	3.6	10.0	15.0	0.9	8.2	1.6	16.2	34.1	51.9	66	4
C <sub>3</sub>	83	47.9	2.1	23	4.2	3.8	10.2	13.5	0.9	3.7	1.0	12.4	28.3	41.7	68	3
C <sub>4</sub>	76	44.3	1.6	28	4.8	4.4	12.0	12.9	1.2	2.2	0.8	8.5	28.3	37.6	75	3
C <sub>5</sub>	69	39.7	1.4	28	4.9	4.5	13.0	16.4	1.2	1.1	0.8	7.0	31.6	39.4	80	3

Horiz.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> digest d = 1.47 ( % )					Ki	Kr	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	P (mg. kg <sup>-1</sup> )
	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Ti O <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>			Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	
C <sub>1n</sub>	138	100	42	5.9	-	2.14	1.70	3.85	10
C <sub>1p</sub>	164	130	53	6.8	-	2.32	1.87	4.20	11
C <sub>2</sub>	124	91	34	7.0	-	2.12	1.76	4.89	22
C <sub>3</sub>	101	81	26	7.4	-	2.48	1.93	3.49	40
C <sub>4</sub>	130	89	40	7.8	-	2.46	1.90	3.41	14
C <sub>5</sub>	126	87	40	7.6	-	2.35	1.85	3.74	11

Horiz. = Pedological horizon; C<sub>in</sub> = natural layer; C<sub>1p</sub> = disturbed layer; CS = coarse sand (1 to 0.2 mm); FS = fine sand (0.2 to 0.05 mm); SI = silt (0.05 to 0.002 mm); C = clay (<0.002 mm); WEC = water dispersible clay; DF = degree of flocculation; BD = bulk density; PD = particle density; TP = estimated total porosity; EH = equivalent moisture; OM = organic matter; OC = organic carbon; N = nitrogen; C/N = carbon/nitrogen ratio; SB = sum of bases; CEC (cation exchange capacity): Ca + Mg + K + Na + H + Al; V = base saturation; M = aluminum saturation; Ki = molecular ratio Silica/Alumina; Kr = molecular ratio Silica/Alumina + Ferric oxide; P = available phosphorus. (Table reproduced from Santana et al., 2004).



Table 2 - General description (a) and morphological characteristics (b) of the studied mangrove soil (Tropaquept) along the Graciosa River

(a) General description	
<b>Unit:</b>	Mangrove Soils
<b>Current classification:</b>	Argisolic Sodic Salic Gleysol (Tropaquept)
<b>Previous classification:</b>	Tropofluvent – Indiscriminat mangrove soil
<b>Location:</b>	Mouth of the Graciosa River, Valenca/ Taperoa boundary along Highway BA-001
<b>Altitude:</b>	2 m
<b>Situation:</b>	Lowlands
<b>Relief:</b>	Flat
<b>Drainage:</b>	Poorly drained
<b>Geologic material:</b>	organic materials and mineral sediments of Proterozoic, Tertiary and Quaternary periods
<b>Vegetation:</b>	Mangroves ( <i>Rhizophora mangle</i> L.)
(b) Morphological characteristics	
<b>C1<sub>p</sub>:</b>	0-20 cm; very dark greenish grayish (3/10 GY – moist); dark grayish greenish (2.5/N – wet); dark yellowish brown (10YR 4/6 – wet); clay loam; soft, consistent massive; slightly plastic and slightly sticky, clear and wavy transition;
<b>C1<sub>n</sub>:</b>	0-20 cm; black (n) and black (2.5 N); clay; soft, consistent massive; plastic and very sticky;
<b>C2:</b>	20-41 cm; very dark greenish grayish (3/3 GY); dark greenish grayish (2.5/N –wet); clay loam; soft, massive coherent; plastic and sticky, clear, wavy transition;
<b>C3:</b>	41-65 cm, very dark greenish grayish (3/5 GY); clay loam; soft, consistent massive; slightly plastic and sticky; clear and wavy transition;
<b>C4:</b>	65-99 cm; dark greenish grayish (2.5/5 G); Clay loam; free, soft, consistent massive that breaks to moderate fine to coarse sub-angular blocky; slightly plastic and sticky; clear wavy transition;
<b>C5:</b>	99-125 cm; greenish grayish (4/5 G); clay loam; consistent massive that breaks to moderate, coarse blocky; plastic and very sticky.

Table 3. Physical parameters obtained from the Gleysol (Tropaquept) at a mangrove of the Graciosa River - Bahia, from 0-20 cm (natural: C1<sub>n</sub>, disturbed: C1<sub>p</sub>), over a five-year interval

Horizon/ year	Coarse Sand	Fine Sand	Silt	Total Clay	Natura l Clay	Silt: Clay	Deg. Floc. (%)	Equiv. Hum. (g/kg <sup>-1</sup> )	Part. Density (g cm <sup>-3</sup> )
	(gkg <sup>-1</sup> )								
C <sub>1n</sub> 2002	76.0 <sup>b</sup>	136.0 <sup>b</sup>	336.0 <sup>a</sup>	452.0 <sup>a</sup>	113.0 <sup>a</sup>	0.7 <sup>b</sup>	75.0 <sup>b</sup>	106.8 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>
C <sub>1p</sub> 2002	157.0 <sup>a</sup>	198.0 <sup>a</sup>	311.0 <sup>a</sup>	334.0 <sup>c</sup>	80.0 <sup>b</sup>	0.9 <sup>a</sup>	76.0 <sup>b</sup>	(*)	2.4 <sup>a</sup>
C <sub>1p</sub> 2007	87.0 <sup>b</sup>	192.0 <sup>a</sup>	307.0 <sup>a</sup>	413.0 <sup>b</sup>	74.0 <sup>c</sup>	0.7 <sup>b</sup>	82.0 <sup>a</sup>	68.9 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>

Averages with the same letter, in the column, were not significantly different by the Scott-Knott test (p &lt; 0.10).

\* Not determined.

## Chemical Parameters

In general the organic matter (OM) presented high content in all layers, in special in the C1<sub>n</sub> and C2.

The pH values observed (3.9 to 5.0) were also found by Lamberti (1969) in mangrove soils of French Guiana. These results characterize this soil as strongly acid and the high levels of H and Al and the possible presence of fulvic acids (related to the OM) are the probable inducers of this acidity.

Regarding the sorptive complex, the soil has similarities between the layers as high CEC due to the large amount of OM and dominance of the cations Mg and Ca followed by Na and K, fact that gives the soil a eutrophic character.

The studied soil presented high fertility, evidenced by the usually high levels of sum of bases (SB), emphasizing Ca and Mg, high cation exchange capacity (CEC), high bases saturation (V), probably due to the low exchangeable acidity. The high ratio Ki of the soil is related to the high activity to the clay fraction, as suggested by Embrapa (2006). The high concentrations of phosphorus, mainly in the deepest horizons (C3, C4), are possibly due to higher concentration of this element at the period of sedimentation (from the parent rock or other soils), or also due to migration of this nutrient through the horizons.

In the comparison of the averages for 0-20 cm layer (Table 4), after a period of five years of advanced but partial vegetation regeneration, it was noted a decrease or a tendency to decrease in pH, Ca, Mg, K, H, C and N. The cation Na obtained significant increase in the disturbed layer in 2007 probably due to the largest influence of the saline wedge. Only Al and P remained unchanged, since the input is possibly assigned to the source material.

The high contents of OM (Table 1) observed in all layers, especially in the superficial ones (C1<sub>n</sub>, C2) indicate that the studied mangrove area has well conserved vegetation, but the human intervention caused a loss of OM in the disturbed layer (C1<sub>p</sub>). The conditions of mangrove soils, generally related to pH, submersion and sulfur compounds, tend to show an accumulation of OM as discussed by Cintrón-Molero and Schaeffer-Novelli (1992). The high C/N ratio (higher than average 10:1) shows a soil with less humified OM. This result probably occurs due to high soil acidity and also to the fact that mangrove areas subject to tides have higher intakes of OM compared to areas without this influence.

The geology of the watershed emphasizes the presence of lithology with predominance of enderbitics gneisses and pyroclastic associations, charnockite gneisses and quartzofeldspathic gneisses, and a lithologic association called "intermediate to basic granulitic rocks" (RADAMBRASIL, 1981). The key elements from these rocks are: TiO<sub>2</sub>, FeO, MgO, K, Ca, Al, Na, Si and Mn.

The high contents of exchangeable bases, especially Mg, are a reflection of the seawater influence, and this concentration depends on the location in the estuary (Gamero et al., 2004; Rossi and Mattos, 2002). There is also the influence of riverine tides, carrying bases in suspension from soil and water bodies upstream to the mangrove. It can also be observed a decrease in salinity with the depth along the sediment profile, reflecting the greater influence of the salt wedge during high tide in the surface layers, as occurs for the layer C2.

This period of five years was not enough for the organic C recovery, and this decrease can also be associated with the hydrodynamic conditions at the study site, in spite of the frequent deposition of OM in

Table 4. Chemical parameters obtained for the Gleysol (Tropoaquept) at a mangrove of the Graciosa River - Bahia, from 0-20 cm (natural C1<sub>n</sub> and disturbed C1<sub>p</sub>), over a five-year interval

Horizon/ year	pH (H <sub>2</sub> O)	Ca	Mg	K	Na	Al	H	P	C	N
		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>						mg dm <sup>-3</sup>	g dm <sup>-3</sup>	
C <sub>1n</sub> (2002)	5.0 <sup>a</sup>	7.6 <sup>b</sup>	16.2 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>	0.7 <sup>a</sup>	7.7 <sup>a</sup>	10.0 <sup>a</sup>	67.9 <sup>a</sup>	4.1 <sup>a</sup>
C <sub>1p</sub> (2002)	4.7 <sup>a</sup>	9.2 <sup>a</sup>	17.5 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	1.1 <sup>c</sup>	1.0 <sup>a</sup>	8.7 <sup>a</sup>	11.0 <sup>a</sup>	55.8 <sup>b</sup>	4.1 <sup>a</sup>
C <sub>1p</sub> (2007)	4.0 <sup>b</sup>	3.3 <sup>c</sup>	4.9 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>	10.5 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	5.1 <sup>b</sup>	8.0 <sup>a</sup>	20.5 <sup>c</sup>	0.9 <sup>b</sup>

Averages with the same letter, in the column, were not significantly different by the Scott-Knott test ( $p < 0.10$ )

the mangrove, as discussed by Reitermajer et al. (2011) and Alongi et al. (2000).

### Heavy Metals

The levels of heavy metals showed more significant concentrations in the disturbed layer ( $C_{1p}$ ) probably due to the deforestation of the studied area, as well as the inputs for the establishment of crops. In general, the heavy metals presented low levels (Table 5 and 6) compared to the typically found levels in uncontaminated soil, described by Raij (1991) as: Fe < 38 mg kg<sup>-1</sup>, Cu < 60 mg kg<sup>-1</sup>, Mn < 600 mg kg<sup>-1</sup>, Zn < 50 mg kg<sup>-1</sup>, Cr < 100 mg kg<sup>-1</sup>, Cd < 0.06 mg kg<sup>-1</sup>, Ni < 13 mg kg<sup>-1</sup>, Pb < 20 mg kg<sup>-1</sup>; except for Cd that was moderately high. Between the layers there were significant differences for all metals (Table 5 and 6). Fe, Mn, Zn, Co and Cd followed a trend of increase with depth, probably attributed to the source material of the soil, what is indicated by the higher concentrations

found in the deepest layers (next to the matrix rock). Copper (Cu) concentrations follow a trend of reduction with depth (Table 5). Cr was the exception, with variable behavior along the depth and presented the highest concentration in the disturbed layer, what can be attributed to inputs from the deposited material and to the use of fertilizers, as indicated in the characterization of the agricultural sites.

The concentrations of Ni and Pb were below the detection limit and these metals were only detected in the disturbed layer  $C_{1p}$  for Ni and in  $C_{1p}$  and  $C_2$  for Pb. This result can be attributed to the use of phosphate fertilizers that contain large quantities of these metals (Raij, 1991). Since Pb is a metal of little mobility, it naturally accumulates in the surface layers, as found in this soil (Table 5).

The comparison between results obtained for the disturbed layer in 2002 and 2007 (Table 6) shows that there were significant decreases in concentrations of Fe, Mn, Zn, Cr, Co, Cd and Pb after five years of the

Table 5. Heavy metal contents obtained for the Gleysol (Tropoaquept) at a mangrove of the estuary of Graciosa River - Bahia, in 2002

Layer	Depth (cm)	Fe	Cu	Mn	Zn	Cr	Co	Ni	Cd	Pb
		mg kg <sup>-1</sup>								
$C_{1n}$	0-20	18.5 <sup>f</sup>	6.1 <sup>b</sup>	85.1 <sup>d</sup>	25.9 <sup>c</sup>	35.9 <sup>c</sup>	4.5 <sup>c</sup>	* b	1.5 <sup>c</sup>	* c
$C_{1p}$	0-20	24.8 <sup>c</sup>	7.7 <sup>a</sup>	71.5 <sup>e</sup>	9.4 <sup>d</sup>	60.2 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	7.0 <sup>a</sup>	1.9 <sup>d</sup>	11.6 <sup>a</sup>
$C_2$	20-41	28.1 <sup>d</sup>	5.2 <sup>b</sup>	99.7 <sup>c</sup>	34.8 <sup>b</sup>	46.4 <sup>c</sup>	6.2 <sup>b</sup>	* b	2.2 <sup>c</sup>	7.5 <sup>b</sup>
$C_3$	41-65	29.6 <sup>c</sup>	3.4 <sup>c</sup>	176.7 <sup>b</sup>	44.3 <sup>a</sup>	44.0 <sup>d</sup>	6.4 <sup>b</sup>	* b	2.5 <sup>b</sup>	* c
$C_4$	65-99	34.4 <sup>a</sup>	1.4 <sup>d</sup>	199.0 <sup>a</sup>	45.0 <sup>a</sup>	51.8 <sup>b</sup>	7.0 <sup>a</sup>	* b	2.8 <sup>a</sup>	* c
$C_5$	99-125	32.6 <sup>b</sup>	1.1 <sup>d</sup>	198.0 <sup>a</sup>	44.9 <sup>a</sup>	48.6 <sup>c</sup>	6.7 <sup>a</sup>	* b	2.8 <sup>a</sup>	* c

Averages with the same letter, in the column, were not significantly different by the Scott-Knott test ( $p < 0.10$ ).

\* Concentration below the detection limit for the method used.

Table 6. Heavy metal content obtained for the Gleysol Salic Sodic argisolic at a mangrove of the Graciosa River - Bahia, in the 0-20 cm layer (natural  $C_{1n}$  and disturbed  $C_{1p}$ ), over an interval of five years

Horizon year	Fe	Cu	Mn	Z n	Cr	Co	Ni	Cd	Pb
	mg kg <sup>-1</sup>								
$C_{1n}$ (2002)	18.5 <sup>c</sup>	6.1 <sup>a</sup>	85.1 <sup>a</sup>	25.9 <sup>a</sup>	35.9 <sup>b</sup>	4.5 <sup>b</sup>	*c	1.5 <sup>b</sup>	*b
$C_{1p}$ (2002)	24.8 <sup>a</sup>	7.7 <sup>a</sup>	71.5 <sup>b</sup>	9.4 <sup>b</sup>	60.2 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	7.0 <sup>b</sup>	1.9 <sup>a</sup>	11.6 <sup>a</sup>
$C_{1p}$ (2007)	22.0 <sup>b</sup>	5.5 <sup>a</sup>	52.4 <sup>c</sup>	7.4 <sup>c</sup>	15.0 <sup>c</sup>	3.3 <sup>c</sup>	11.8 <sup>a</sup>	*c	*b

Averages with the same letter, in the column, were not significantly different by the Scott-Knott test ( $p < 0.10$ ).

\* Concentration below the detection limit for the method used.

first sampling. During this period the soil showed an increase in clay and in the flocculation degree (Table 3). However, this last factor normally does not affect the mobilization of metals in the soil as discussed by Förstner and Wittmann (1993), suggesting the association of metals preferentially to fine fractions of silt and clay size ( $< 2$  mm), which make up the sediments of mangroves. This metals/fine sediment fractions association is favored by the adsorption reactions, due to the high specific surface area of fine particles; and heavy metals in sediments of mangroves occur more often in soils with higher sand fraction due to the strong association of the minerals present in this fraction of the Barreiras Group sediments with metals, (Förstner and Wittmann, 1993).

The abandonment of the mangrove area and the rapid regeneration of *R. mangle* vegetation may also have contributed to the observed changes in metals concentrations, since this plant has the capacity to mobilize metals. Only for Ni there was significant increase in the second sampling, probably because this metal is strongly adsorbed by the finest fractions remaining of the soil, as observed by Malavolta and Reichardt (1976).

The concentration of heavy metals depends, among other factors, on the source material and on the process of soil formation. The reactions that control the availability of heavy metals in mangrove soils include adsorption and desorption, precipitation, dissolution and complexation which are influenced by different chemical attributes such as activity of the clay fraction and organic carbon content. Yet the pH and the redox potential are the most relevant ones because they control the chemical speciation of metals in soil solution (Levent Tuna et al., 2007).

Another explanation would be the deposit and accumulation of these metals due to stagnation of river water during maximum ebb tide (Figure 2) in the deepest layers, contributing to the provision of small concentrations of these metals, from lithologic soil/material and upstream water bodies, to the upper horizons of the profile.

Additionally, residual fuel oils from the daily navigation of vessels in the Graciosa River estuary may also be contributing to the occurrence of metals (as suggested by Paul et al., 1994; Förstner and Wittman, 1993), as these oils have in their composition

hydrocarbons and trace metals such as Ni and Cu. The concentrations of Fe are relatively low following the same trend observed by Lima (2001), that observed the pre-weathered source material and the pedoclimatic conditions of the Amazon region were driving factors for the low levels of Fe. In this study the source material is possibly poor in Fe and/or the transport of this metal in suspension from upstream water bodies is not very efficient, contributing to low concentrations of Fe in the soil. The hydromorphism may be the cause for fluctuations in Fe concentrations that occur in the intertidal zone, since it causes the leaching of Fe oxides to the deepest layers, as observed for this soil (Table 5). The low level of development of this soil and its salic sodic character may also influence loss of Fe and clays by ferrollysis as described by Schaefer and Dalrymple (1996).

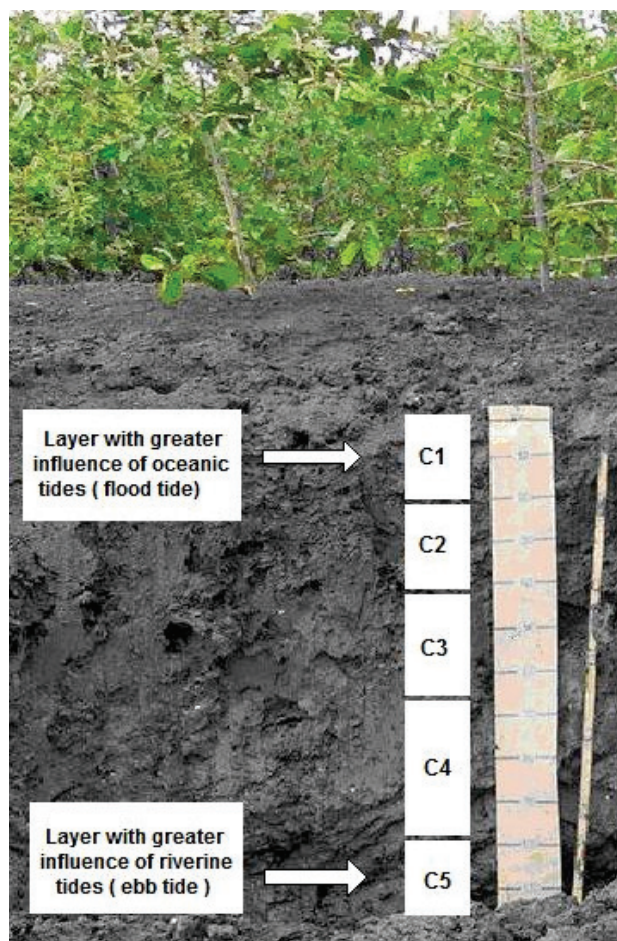


Figure 2. Location of riverine and oceanic influences on the studied mangrove soil.



Lima (2001) also observed a tendency of decrease with depth for the Copper concentration in Gleysols of the Western Amazon. Zinc concentrations showed a well-defined behavior, increasing with soil depth and stabilizing in the deepest layer. The presence of this metal in soil may be related to the source material, being presented in high concentrations in magmatic rocks, as well as in fertilizers and fossil fuels as suggested by Malavolta and Reichardt (1976).

The high concentrations of Cd ( $> 0.06 \text{ mg kg}^{-1}$ ) are probably attributed to the material of sedimentary origin, where this metal content can reach  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , as suggested by Malavolta and Reichardt (1976), a result reinforced by the higher concentrations of this metal in the deepest layers, close to the matrix rock. In soils close to urban areas, as additional sources, the residue of tires, diesel and lubricating oils, may contribute to the increase of this metal in soil.

### Microbial Data

Mangrove vegetation, with a predominance of *R. mangle*, as well as temperature, OM input and water and nutrients availability, are some of the factors among others, that help to control the microbial composition and activities, determining their survival and growth conditions as suggested by Ovreås and Torsvik (1998). These aspects may vary depending on the tidal cycle, the climate changes and the flora and fauna activity.

In soils of mangroves constantly flooded, there is a greater connectivity between microbial sites, since the water has a binding role between the soil aggregates, then resulting in a greater uniformity of

the structure of microbial communities as suggested by (Borneman and Triplett, 1997). Biogeochemical processes, pH, type of mineral fraction, vegetation type, heavy metal contamination, sampling depth, all these factors may influence the quantification of soil microorganisms. Table 7 presents obtained data on bacteria, fungi and mycorrhiza. The correlations between soil physical and chemical properties and microbial data are set in Table 8.

**Bacteria** - The quantification of bacteria in soil showed significant differences among the layers, with higher concentrations of these microorganisms in the layer C<sub>1n</sub>. Conversely, there was a sharp decline in the bacterial populations in layer C<sub>2</sub>, with counts near to zero. In layer C<sub>4</sub> a marked growth of bacterial population was observed.

The greater biological activity in the superficial horizons occur due to the large amount of OM, the presence of light and oxygen and various other factors, as suggested by Borneman and Triplett (1997). The sharp decline in the bacterial populations in layer C<sub>2</sub> may be related to the fact that these microorganisms do not support acid pH, high salinity and high concentrations of Al, parameters met in this layer (Table 1). Soil moisture and porosity (aeration) in this layer are factors that should favor the development of bacterial populations, but in this case, this wasn't observed.

Several factors may have contributed to the marked growth of bacterial population in the layer C<sub>4</sub>: the high C/N ratio, higher pH, and lower Al and high P concentrations. Heavy metals levels in the soil did not influence the dynamics of bacteria as also observed by

Table 7. Quantification of microorganisms (bacteria, fungi and mycorrhizae) in six layers of the Gleysol at a mangrove of the Graciosa River - Bahia

Horizon	Depth (cm)	Bacteria CFU g soil <sup>-1</sup> x 10 <sup>6</sup>	Fungi CFU g soil <sup>-1</sup> x 10 <sup>2</sup>	Mycorrhiza spores/100 g soil <sup>-1</sup>
C <sub>1n</sub>	0-20	7.3 <sup>a</sup>	653.3 <sup>a</sup>	113.0 <sup>a</sup>
C <sub>1p</sub>	0-20	6.2 <sup>d</sup>	93.3 <sup>c</sup>	19.0 <sup>d</sup>
C <sub>2</sub>	20-41	* <sup>f</sup>	27.0 <sup>d</sup>	42.0 <sup>c</sup>
C <sub>3</sub>	41-65	5.5 <sup>e</sup>	7.0 <sup>e</sup>	12.0 <sup>c</sup>
C <sub>4</sub>	65-99	6.8 <sup>b</sup>	46.7 <sup>d</sup>	12.0 <sup>c</sup>
C <sub>5</sub>	99-125	6.5 <sup>c</sup>	419.7 <sup>b</sup>	54.0 <sup>b</sup>

Averages with the same letter, in the column, were not significantly different by the Scott-Knott test ( $p < 0.10$ ).

\* Concentration below the detection limit for the method used.

Table 8. Correlation between the chemical and physical soil data and the microbial data

(a) Chemical properties				(b) Physical properties			
	Bacteria	Fungi	Mycorrhiza		Bacteria	Fungi	Mycorrhiza
OM	-0.3501	0.2817	0.5872	CS	-0.1438	0.6897	0.9099
OC	-0.3371	0.2816	0.5846	FS	0.3688	0.2548	0.0263
N	-0.1497	0.2307	0.4318	SI	0.2575	-0.1616	-0.4504
C/N	0.1949	-0.0856	-0.2738	C	-0.3161	-0.4763	-0.2865
pH	0.8247	0.4081	0.0888	BD	-0.2987	-0.9325	-0.8532
Ca	0.1035	0.0742	-0.0841	TP	-0.5254	-0.9570	-0.7985
Mg	0.1733	0.8035	0.7938	EH	-0.6608	-0.9335	-0.7272
K	0.7540	0.5544	0.2997	OM = organic matter; OC = organic carbon; C/N = carbon/nitrogen ratio; P = available phosphorus; CS = coarse sand; FS = fine sand; SI = silt; C = clay; BD = bulk density; TP = estimated total porosity; EH = equivalent moisture.			
Na	-0.9390	-0.6537	-0.3478				
P	-0.0453	-0.5986	-0.7668				
Al	-0.9056	-0.1945	0.1666				

Yim and Tam (2003). In this study, the pH was possibly the most important factor that adversely affected the bacterial populations.

**Fungi** - Significant differences were observed between the layers for fungal abundance. The high populations observed in the layers C1<sub>n</sub> and C5 related mainly with the acidic character of these layers, fact that was partially confirmed in this study since the fungi had a better development in the layers where bacterial populations were reduced, except in the surface layer (0-20 cm). Fungal populations were positively influenced by slight increasing in pH as well as by anaerobic conditions, even that the latter factor could be an inhibiting factor in some fungi populations.

The high populations observed in the layers C1<sub>n</sub> and C5 can be explained mainly by the acidic character of these layers, since soil fungi grow better in acidic conditions because they suffer less competition with bacteria (Jordan et al., 1995).

**Mycorrhizae** - The number of mycorrhizal spores varied between the layers of the studied soil profile, with the largest populations occurring in the undisturbed surface layer, C1<sub>n</sub>. The high concentration of OM, C, N, higher luminosity, better aeration, a favorable pH and low concentrations of Na and Al are aspects that likely favored the development of these fungi in this layer, as discussed by Silveira (1992).

Flooding, often seen as inhibiting mycorrhizal growth (Silveira, 1992), did not significantly influence the population, which showed good development in the C5 layer, which remained flooded for long periods. Overall, the data suggest that the deposition of nutrients and compounds in the regions of the soil profile corresponding to the maximum and minimum tide (Figure 2), favored the growth of microorganisms adapted to the unique chemical conditions.

## Conclusion

The physical and chemical properties of the studied mangrove soil were influenced by the regime of oceanic and riverine tides due to the estuarine location. Human intervention has led to a decline in the concentrations of clay and organic carbon in the soil.

The proximity of urban agglomerations and the upstream of the site – including the release of urban sewage, and use of fossil fuels and fertilizers – did not result in contamination by heavy metals (Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Pb, Co) in soil. Cadmium, due to its moderately high concentrations in the surface, is indicated to further studies to better understand its source and fate in this ecosystem.

The abundance of microorganisms (bacteria, fungi, mycorrhizae) was higher in the undisturbed surface layer and in the lower and intermediate layers of the disturbed site.

### Literature Cited

- ALONGI, D. M.; TIRENDI, F.; CLOUGH, B. F. 2000. Below-ground decomposition of organic matter in forests of the mangroves *Rhizophora stylosa* and *Avicennia marina* along the arid coast of Western Australia. *Aquatic Botany* 68(2):97-122.
- BORNEMAN, J.; TRIPLETT, E. W. 1997. Molecular microbial diversity in soils from Eastern Amazonia: evidence for unusual microorganisms and microbial populations shifts associated with deforestation. *Applied Environmental Microbiology* 63:2647-2653.
- CINTRÓN-MOLERO, G.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y. 1992. Ecology and management New World mangroves. In: Seeliger, U. ed., *Coastal plant communities of Latin America*. San Diego, Academic Press. pp.233-258.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. 1997. Manual de métodos de análise do solo. Rio de Janeiro, EMBRAPA SOLOS. 212p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS. 2013. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3 ed. Brasília, DF, Embrapa. 353p.
- CLARK, M. W. 1998. Management implications of metal transfer pathways from a refinery tip to mangrove sediments. *Science. Total Environment* 222:17-34.
- FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G. 1993. *Metal pollution in the aquatic environment*. 2nd ed., Berlin, Springer-Verlag. 486p.
- GAMERO, R. M. P.; TORRADO, P. V.; FERREIRA, T.O. 2004. Mineralogia e físico-química dos solos de mangue do rio Iriri no Canal de Bertioga. *Revista Brasileira de Ciências do Solo* 28(1):233-243.
- HERZ, R. 1991. *Manguezais do Brasil*. São Paulo, USP/Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 233p.
- JORDAN, D. et al. 1995. Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. *Biology and Fertility of Soils* 19(4):297-302.
- KLUTE, A. 1986. *Methods of soil analysis – Part 1. Physical and mineralogical methods*. 2nd Ed. Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy and Soil Science Society of America Agronomy Series, nº 9. 1358p.
- LAMBERTI, A. 1969. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas do manguezal de Itanhaém. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo*, 317. *Boletim de Botânica (Brasil)* 23:1-217.
- LEMO, R. C.; SANTOS, R. D. 1996. *Manual de descrição e coleta de solo no campo*. 3rd Ed. Campinas, SP, SBCS. 84p.
- LEVENT TUNA, A. et al. 2007. Sources and distribution of trace metals in the Saricay stream basin of southwestern Turkey. *Environment Monitoring Assessment* 125:47-57.
- LIMA, H. N. 2001. *Gênese, química e micromorfologia de solos da Amazônia Ocidental*. Tese de Doutorado. Viçosa, MG, UFV. 176p.
- MALAVOLTA, E.; REICHARDT, K. 1976. *Manual de química agrícola: nutrição de plantas e fertilidade do solo*. São Paulo, SP, Ceres. 528p.
- MARIUS, C.; LUCAS, J. 1991. Holocene mangrove swamps of West Africa sedimentology and soils. *Journal of African Earth Science* 12:41-54.
- McGRATH, S. P.; CUNLIFFE, C. H. 1985. A simplified method for the extraction of metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 36:794-798.
- MUNSELL COLOR COMPANY. 2000. *Determination of soil color*. New York. 22p.
- OVREÅS, L.; TORSVIK, V. 1998. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities. *Microbial Ecology* 36:303-315.

- PAGE, A. L.; MILLER, R. H.; KEENEY, D. R. 1982. Methods of soil analysis – part 2. Chemical and microbiological properties. Madison, Wisconsin, America Society of Agronomy and Soil Science Society of America Agronomy Series, nº 9. 1159p.
- PAUL, A. C.; PARAMESWARAN, M.; PILLAI, K. C. 1994. Trace metal and lanthanides in a tropical river environment. *Water Air Soil Pollution* 74:141-153.
- RADAMBRASIL. 1981. Levantamento dos Recursos Naturais. Ministério das Minas e Energia Folha SD. 24, Salvador/Rio de Janeiro, RJ. 624p.
- RAIJ, B. 1991. Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba, SP, Ceres/Potafos. 343p.
- RAMOS S. 2002. Manguezais da Bahia: breves considerações. Ilhéus, BA, UESC/Editus. 104p.
- REITERMAJER, D.; CELINO, J.J.; QUEIROZ, A.F. de S. 2011. Heavy metal distribution in the sediment profiles of the Sauípe River Estuary, north seashore of the Bahia State, Brazil. *Microchemical Journal* 99:400-405.
- ROSSI, M.; MATTOS, I. F. A. 2002. Solos de mangue do estado de São Paulo: Caracterização Química e Física. *Revista do Departamento de Geografia (Brasil)* 15:101-113.
- SAEG. SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS. 2010. versão 9.1. UFV, FUNARBE - Fundação Arthur Bernardes.
- SANTANA, S.O. et al. 2005. Levantamento Semidetalhado dos solos no Município de Valença, Bahia, Brasil. Ilhéus, BA, CEPLAC/CEPEC. *Boletim Técnico* nº. 190. 56p.
- SCHAEFER, C.E.R.G.; DALRYMPLE, J. B. 1996. Pedogenesis and relict properties of soil with columnar structure. *Geoderma* 71:1-17.
- SEI - SUPERINTENDENCIA DE ESTUDOS ECONÔMICO E SOCIAIS DA BAHIA, GERÊNCIA DE RECURSOS NATURAIS. 2003. Mapa Pluviométrico da Bahia. Salvador: 1 mapa, color. Escala 1: 2.000.000.
- SILVEIRA, A. P. D. 1992. Micorrizas. In: Cardozo, E. J. B. N.; Tsai, S. M.; Neves, M. C. P. *Microbiologia do Solo*. Cap.19. Campinas, SP, SBCS. 360p.
- SOARES, M. L. G.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRON-MOLERO, G. 2000. The use of mangroves as indicators of sea-level changes. In: 6th International Wetland Symposium, 6º and International Association of Ecology, Millennium Wetland Event. Quebec, Canada. 213p.
- SYLVIA, D. M. 1994. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Weaver, R. W. et al. eds *Methods of soil analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society. pp.351-378.
- WOLLUM II, A. G. 1982. Cultural methods for soil microorganisms. In: Page, A. L.; Miller, R. H.; Keeney, D. R. eds. *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties*. 2nd Ed. Agronomy. Monograph, nº 9. pp.781-802.
- YEOMANS, J. C.; BREMNER, J. M. 1988. A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Commonwealth. Soil Science Plant Analytical* 19:1467-1476.
- YIM, M. W.; TAM, N. F. Y. 2003. Effects of wastewater-borne heavy metals on mangrove plants and soil microbial activities. *Marine. Pollution Bulletin*. pp.179-186.

●



## SELEÇÃO DE CLONES DE CACAUEIROS RESISTENTES À MURCHA-DE-CERATOCYSTIS EM CONDIÇÕES DE CAMPO

*Stela Dalva Vieira Midlej Silva<sup>1</sup>, Uilson Vanderlei Lopes<sup>1</sup>, Virgínia Oliveira Damaceno<sup>1</sup>, Antônio Walter de Oliveira Rocha Júnior<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>CEPLAC/CEPEC, Km 22 Rodovia Ilhéus/Itabuna, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. stelad@ig.com.br; <sup>2</sup>UESC, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Campus Soane Nazaré de Andrade, km 16 Rodovia Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, Bahia, Brasil.

Visando selecionar clones de cacaueiro resistentes a *Ceratocystis cacaofunesta* em condições de campo foram instalados dois ensaios: 65 clones (Ensaio 1) e 15 clones (Ensaio 2). Em cada planta foram selecionados cinco ramos, quatro receberam o inóculo com 30µL do isolado Cc 20 na concentração de  $3,0 \times 10^4$  UFC/mL e a testemunha somente ágar-água. No local sem ou com inóculo foi colocado um algodão umedecido envolto com uma fita plástica para formar uma câmara úmida. O delineamento foi inteiramente casualizado com duas plantas por genótipo no Ensaio 1 e três plantas no Ensaio 2. Sessenta dias após a inoculação os ramos foram retirados das plantas e levados para o laboratório para medir a altura e largura da lesão. Após a tomada de dados, todo o material foi incinerado. Nos dois ensaios pela análise da média das lesões, o clone TSH 1188 mostrou-se ser o mais resistente, enquanto o genótipo VB 316, o mais suscetível.

**Palavras-chave:** *Theobroma cacao*, *Ceratocystis cacaofunesta*, resistência

**Selection of cacao genotypes resistant to *Ceratocystis* wilt under field conditions.** In order to select cacao clones resistant to *Ceratocystis cacaofunesta* under field conditions two trials were installed: 65 clones (Trial 1) and 15 clones (Trial 2). In each plant we selected five branches, four received the inoculum with 30 µL of the isolate Cc 20 in a concentration of  $3,0 \times 10^4$  CFU / mL and the control received only water-agar. At the site, with or without inoculums, it was placed a moistened cotton wrapped with a plastic tape to form a moist chamber. The design was a completely randomized, with two plants per genotype in Trial 1 and three plants in Trial 2 in. Sixty days after the inoculation, branches of the plants were removed and taken to the laboratory to measure the height and width of the lesion. After collecting the data, all material was incinerated. In both trials, based on the lesion averages, clone TSH 1188 proved to be the most resistant while genotype VB 316, the most susceptible.

**Key words:** *Theobroma cacao*, *Ceratocystis cacaofunesta*, resistance

## Introdução

Em 1989 Pereira et al. (1989) constataram pela primeira vez a doença vassoura-de-bruxa do cacau (Theobroma cacao L.), causada pelo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa*, na região sul da Bahia, e, desde então, esta doença provocou sérios danos econômico-sócio-ambientais. A produção de cacau nesta região sofreu reduções drásticas, passando o Brasil de país exportador para importador. Diante disso, criou-se a necessidade do estabelecimento de programas de melhoramento genético para retomada do agronegócio cacau na obtenção de variedades resistentes e de alta produtividade. Porém, em 1997 foi constatada a ocorrência da murcha-de-ceratocystis ou mal-do-facão em enxertos no viveiro, e em 1998, em cacaueiros adultos (Bezerra, 1997; Bezerra et al., 1998).

A murcha-de-Ceratocystis é causada pelo fungo *Ceratocystis cacaofunesta*. Esta doença foi constatada pela primeira vez em 1918, no Equador, e nas décadas de 50 e 60 a doença adquiriu importância epidêmica, provocando a morte de milhões de árvores. No Brasil, foi encontrada pela primeira vez em Rondônia e mais recentemente, na região sul da Bahia. É possível que a doença estivesse presente de forma esporádica, na região, já por alguns anos, só começando realmente a apresentar alguma importância econômica com o plantio de determinados materiais genéticos, a partir de 1995, que a despeito de apresentarem resistência à vassoura-de-bruxa, mostraram-se bastante suscetíveis à murcha-de-ceratocystis, como foi o caso da variedade Theobahia.

A disseminação da murcha-de-ceratocystis entre as plantas se dá pelos tratos culturais normais da lavoura, que resultam em ferimentos principalmente na desbrota que permite a passagem de propágulos de uma planta doente para outra sadia através da ferramenta.

Estudos metodológicos para a avaliação da resistência de clones do cacau à murcha-de-ceratocystis foram desenvolvidos por Alarcon (1994), Delgado; Echandi (1965), Domingues; Velasquez (1972), Guerrero (1975), Silva et al. (2007), Silva (2005), Silva e Luz (2000), Sanches (2007) e Sanches et al. (2007). Nesta última citação, os autores estudando aspectos metodológicos e comparando a

resistência entre 10 clones de cacau, em fase de plântulas, à murcha-de-ceratocystis indicaram os clones TSH 1188 e o CEPEC 2008 como os de maiores resistência; o CEPEC 2002, CEPEC 2007, CEPEC 2009 e o CCN 10 com resistência moderada; e, como mais suscetíveis os clones CCN 51, SJ 02, PH 16, HW 25 e a concentração de inóculo  $10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> como adequada para este estudo.

Existem também algumas evidências, ainda sujeitas à confirmação, que indicam que o clone IMC 67 é resistente à murcha-de-ceratocystis e expressa estabilidade regional (Dias, 2001).

Silva et al. (2004), relatam que os clones SIC 644 e SIC 812 apresentaram-se como moderadamente resistentes e a variedade 'Jaca' foi a única com maior resistência, acompanhada pelos clones SIAL 577, CB 205 e CBI 205, quando empregou a metodologia preconizada por Delgado e Echandi (1965).

Considerando-se o fato da murcha-de-ceratocystis ocorrer em toda região cacaueira da Bahia e com o registro em 2001, no norte do Espírito Santo (Almeida et al., 2005), a busca de fontes de resistência à doença é imprescindível para que não se torne um problema ainda mais grave na cultura. O uso de material genético resistente é o controle mais eficiente e econômico. Com esse objetivo, na busca de material resistente à murcha-de-ceratocystis foram realizados dois ensaios, sendo o Ensaio 1 com 65 clones e o Ensaio 2 com 15 clones. Os clones do Ensaio 1 foram instalados em ensaios de rede em seis agrossistemas da região cacaueira da Bahia, para avaliação de sua resistência à vassoura-de-bruxa, produtividade e outras características agrônomicas desejáveis. No Ensaio 2 foram usados clones resistentes, intermediários e suscetíveis selecionados no Ensaio 1 acrescido dos clones ICS 1, Jaca e IMC 67.

## Material e Métodos

### Ensaio 1

#### Material genético

Sessenta e cinco clones de cacau com aproximadamente três anos instalados na Quadra H da área experimental do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) em Ilhéus, Bahia, foram testados quanto sua reação ao *C. cacaofunesta* (Tabela 1).

Tabela 1 - Relação dos 65 clones testados no Ensaio 1

AM 01	FF 38	FSU 07	NV 02	RT 09	SM 04	TSH 1188	VB 902
AM 02	FL 16	FSU 127	NV 22	RT 106	SM 06	VB 309	VB 903
BB 1 33	FL 29	FSU 13	NV 77	RV ID 12	T 10	VB 311	
BB 6020	FL 60	FSU 151	PAT 118	SCS 18	T 11	VB 316	
BB 6021	FL 77	FSU 77	PAT 84	SCS 20	TR 12	VB 515	
CSF 22	FLN 30	GM 33	PB 617	SIAL 169	TR 15	VB 547	
DF 01	FLN 46	HR 20	PH 16	SIC 23	TR 22	VB 679	
FADA 100	FSR 01	HR 29	PS57 1	SJ 02	TR 35	VB 892	
FADA 18	FSU 01	M 05	PS57 111	SM 02	TR 36	VB 900	

### Inoculação

Em cada duas plantas escolhidas do genótipo foram marcados cinco ramos lenhosos com aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, sendo que quatro ramos receberam o inóculo e um ramo foi à testemunha. Como inóculo, utilizou-se o isolado do fungo *C. cacaofunesta* identificado como Cc 20 da Micoteca da Seção de Fitopatologia do CEPEC.

O isolado foi reativado, pincelando uma suspensão de suas estruturas em fragmentos de 4 cm de ramos de cacaueiros cortados ao meio longitudinalmente, conforme metodologia preconizada por Delgado e Echandi (1965). Após quatro dias de incubação em câmara úmida, os ascósporos foram transferidos para tubo de ensaio contendo meio BDA. Aos oito dias de crescimento do fungo foi colocado no tubo de ensaio água destilada esterilizada e, com auxílio de um pincel, foram retiradas as estruturas do fungo. A suspensão obtida foi filtrada em gaze para eliminar os peritécios. A suspensão final composta de ascósporos, conídios e

fragmentos de hifas foi ajustada para  $3,0 \times 10^4$  UFC/mL em 0,3% de AA (água-ágar). Nos ramos dos cacaueiros foi feito um corte com bisturi, no sentido horizontal de maneira que a casca se desprendesse e o lenho ficasse exposto. Neste local foram depositados 30 µL de uma solução de 0,3% AA (água-ágar), no ramo testemunha, e, nos inoculados, o mesmo volume de uma suspensão de  $3,0 \times 10^4$  UFC/mL. No local da incisão foi feita uma câmara úmida, colocando algodão umedecido com água destilada estéril recoberto com uma fita plástica (veda-rosca).

### Avaliação

Sessenta dias após a inoculação, os ramos foram cortados a 20 cm abaixo do ponto de incisão e colocados em sacos plásticos devidamente identificados com o número da parcela do genótipo e da planta. Em laboratório, a casca dos ramos foi retirada para possibilitar a medida de altura e largura da lesão (Figura 1).



Figura 1. Inoculação em cacaueiro com *Ceratocystis cacaofunesta* em campo. A - ramos retirados do campo para avaliação; B - visão das lesões em ramos inoculados e a testemunha sem lesão.

## Ensaio 2

O Ensaio 2 foi realizado após a análise do Ensaio 1 no qual foram selecionados clones de cada um dos três grupos formados: resistente (TSH 1188, SCS 20, BB 1 33, VB 515 e FSU 77), intermediário (VB 900 e VB 547) e suscetível (PH 16, CSF 22, FSU 127, VB 892 e VB 316), perfazendo um total de 15 clones com a inclusão dos clones ICS 1, IMC 67 e JACA. Os procedimentos foram os mesmos realizados no Ensaio 1, com exceção do número de repetições, que foram três plantas por genótipo.

### Análise dos dados

Nos Ensaios 1 e 2 foram realizadas as medidas de altura e largura da lesão, para obtenção da área lesionada pelo patógeno nos ramos. A análise de variância e estimação do coeficiente de correlação de Pearson e componentes de variância foram realizadas usando o programa SAS (SAS Institute, 1989), já o agrupamento das médias pelo método de Scott-Knott foi realizado usando o programa Genes (Cruz, 2001). A herdabilidade clonal ( $h^2_c$ ) foi estimada como:  $h^2_c = \sigma^2_c / [\sigma^2_c + \sigma^2_b + \sigma^2_r]$ , onde  $\sigma^2_c$ ,  $\sigma^2_b$  e  $\sigma^2_r$  são estimativas dos componentes de variância associados a clones, blocos e resíduo.

## Resultados e Discussão

Nos dois ensaios, os ramos testemunhas não apresentaram lesão. Dos 65 clones testados, no Ensaio 1, a média de área lesionada foi realizada somente em 64 clones (Tabela 2), pois o CSF 22 se apresentou como o mais suscetível, causando murcha e seca nos ramos inoculados (Figura 2).



Figura 2 - Visão do ramo seco do clone CFS 22 aos 60 dias após a inoculação em campo com *Ceratocystis cacaofunesta*; local da inoculação (seta).

Tabela 2 - Média da lesão (cm<sup>2</sup>) de *Ceratocystis cacaofunesta* em 64 clones de cacaueiro inoculados artificialmente no campo

Clone	Área	Clone	Área	Clone	Área	Clone	Área
TSH 1188	2,19	NV 22	10,68	SIAL 169	19,31	NV 02	27,56
BB 1 33	2,60	NV 77	12,60	HR 29	19,47	SJ 02	27,85
SCS 20	3,49	VB 309	12,90	PS57 1	20,11	TR 35	28,58
PAT 118	4,45	T 11	13,89	TR-15	20,27	FL 29	29,17
FL 60	5,08	FLN 30	14,10	PS57 111	22,58	FL 16	29,23
HR 20	5,11	FL 77	14,15	T 10	22,60	VB 679	30,31
SCS 18	5,46	TR 36	14,15	BB 6020	22,76	SM 06	32,19
SIC 23	6,56	FSU 151	14,25	VB 547	23,17	FADA 18	33,05
VB 902	6,87	FSU 77	14,48	FSU 01	23,51	FADA 100	35,36
FSR 01	7,56	BB 6021	14,51	RT 106	24,76	AM 02	36,14
FSU 13	7,92	M 05	16,33	VB 900	25,33	PAT 84	36,65
GM 33	8,07	TR 12	16,53	SM 02	26,10	PH 16	41,19
FLN 46	8,09	RV ID 12	16,68	DF 01	26,34	VB 892	42,84
TR 22	8,42	FF 38	17,57	VB 311	26,36	FSU 127	43,28
PB 617	8,46	VB 515	17,68	FSU 07	27,09	AM 01	47,40
VB 903	9,36	RT 09	18,46	SM 04	27,49	VB 316	55,98



De acordo como o teste F foram encontradas evidências de diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, entre os clones com relação à infecção a *C. cacaofunesta* (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância da área lesionada ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em 64 clones de cacaueiro inoculados no campo

Fonte	GL	Quadrado Médio	Valor F	Probab.
Clone	63	247,14	2,91	<0,0001
Bloco	1	305,93	3,60	0,0632
Erro	52	84,91		

As duas variáveis estimadas altura e largura da lesão apresentaram uma forte correlação positiva ( $r = 0,72$ ) (Figura 3), assim como a uma alta herdabilidade clonal (0,59 e 0,73, respectivamente) (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de 64 clones de cacaueiro e herdabilidade clonal para as variáveis altura, largura e área da lesão ocasionada por *C. cacaofunesta*

Variável	Altura	Largura	Área	h <sup>2</sup>
Altura	1,00	0,72 **	0,93 **	0,59
Largura		1,00	0,88 **	0,73
Área			1,00	0,66

O método de Scott-Knott aplicado aos 64 clones testados possibilitou classificá-los em três grupos: resistente (R), intermediário (I) e suscetível (S) conforme suas reações ao *C. cacaofunesta* (Tabela 5).

O clone TSH 1188 apresentou a menor média de área lesionada (2,19 cm<sup>2</sup>), comprovando a sua resistência ao *C. cacaofunesta*, como foi demonstrado por trabalhos anteriores feitos com plântulas em casa de vegetação por Oliveira et al. (2009) e Silva et al. (2007, 2010, 2012). Entre os clones resistentes houve uma variação da área lesionada de 2,19 a 20,27 cm<sup>2</sup> correspondendo a 56,25% do total de clones testados. Os clones BB 1 33, SCS 20, PAT 118 e FL 60 apresentaram área média lesionada menor que 5,8 cm<sup>2</sup>. O clone VB 902 agrupado entre os resistentes apresentou o mesmo comportamento quando inoculado em progênies de polinização aberta por Silva et al. (2012).

O grupo intermediário foi formado por 31,25% dos clones testados com uma variação de 22,58 a 33,05 cm<sup>2</sup> de área média de lesão. Dentre estes clones, Oliveira et al. (2009) e Silva et al. (2012), também agruparam os clones PH 15 e MO 5 como intermediários, quando foram inoculados em progênies de polinização livre em casa de vegetação. Porém, discordaram quanto ao clone SJ 02, que em seus trabalhos se apresentou como suscetível.

O clone VB 316 apresentou a maior média de área lesionada (55,98 cm<sup>2</sup>) dos clones testados. O grupo dos clones suscetíveis correspondeu a 12,5% dos clones

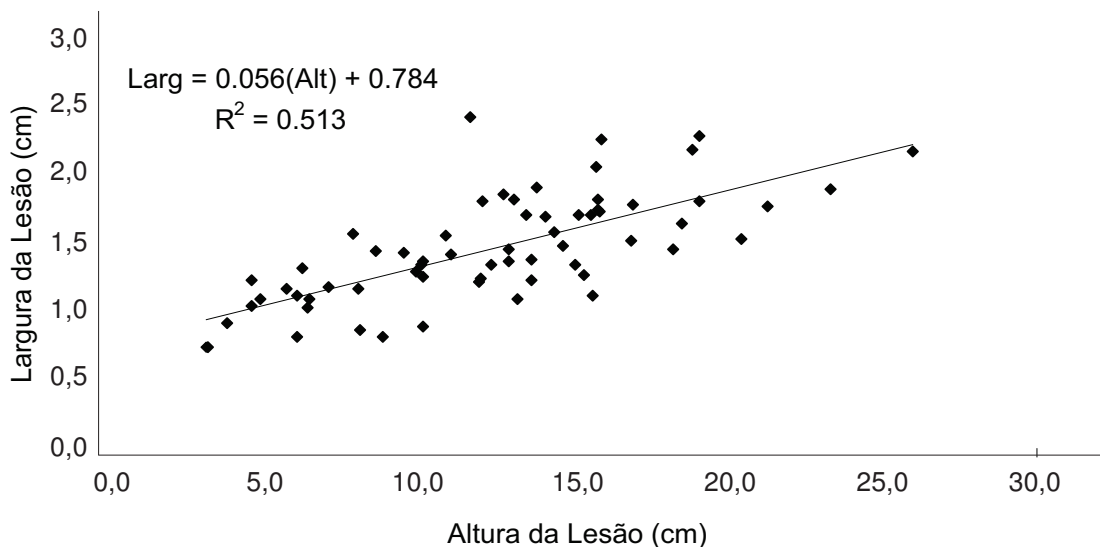


Figura 3. Largura x altura da lesão ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em 64 clones de cacaueiro inoculados no campo.

Tabela 5. Área da lesão ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em 64 clones de cacaueiro inoculados no campo no Ensaio 1

Clone	Área (cm <sup>2</sup> )	Clone	Área (cm <sup>2</sup> )
TSH 1188	2,19 c*	SIAL 169	19,31 c
BB 1 33	2,60 c	HR 29	19,47 c
SCS 20	3,49 c	PS 57 1	20,11 c
PAT 118	4,45 c	TR 15	20,27 c
FL 60	5,08 c	PS 57 111	22,58 b
HR 20	5,11 c	T 10	22,60 b
SCS 18	5,46 c	BB 6020	22,76 b
SIC 23	6,56 c	VB 547	23,17 b
VB 902	6,87 c	FSU 01	23,51 b
FSR 01	7,56 c	RT 106	24,76 b
FSU 13	7,92 c	VB 900	25,33 b
GM 33	8,07 c	SM 02	26,10 b
FLN 46	8,09 c	DF 01	26,34 b
TR 22	8,42 c	VB 311	26,36 b
PB 617	8,46 c	FSU 07	27,09 b
VB 903	9,36 c	SM 04	27,49 b
NV 22	10,68 c	NV 02	27,56 b
NV 77	12,60 c	SJ 02	27,85 b
VB 309	12,90 c	TR 35	28,58 b
T 11	13,89 c	FL 29	29,17 b
FLN 30	14,10 c	FL 16	29,23 b
FL 77	14,15 c	VB 679	30,31 b
TR 36	14,15 c	SM 06	32,19 b
FSU 151	14,25 c	FADA 18	33,05 b
FSU 77	14,48 c	FADA 100	35,36 a
BB 6021	14,51 c	AM 02	36,14 a
M 05	16,33 c	PAT 84	36,65 a
TR 12	16,53 c	PH 16	41,19 a
RV ID 12	16,68 c	VB 892	42,84 a
FF 38	17,57 c	FSU 127	43,28 a
VB 515	17,68 c	AM 01	47,40 a
RT 09	18,46 c	VB 316	55,98 a

\*Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo método de Scott-Knott ( $\alpha = 5\%$ ).

testados, apresentando uma variação na média de área lesionada de 35,36 a 55,98 cm<sup>2</sup>. Destes, o PH 16 teve sua comprovação em campo como suscetível, corroborando com os trabalhos em casa de vegetação de Sanches (2007), que encontrou 93% de plântulas mortas e Silva et al. (2007, 2012) com 60 e 85% de mortalidade das plântulas, respectivamente, embora estes dois autores não tenham usado o mesmo isolado do patógeno.

No Ensaio 2, os 15 clones foram analisados pelos mesmos procedimentos do Ensaio 1. As estimativas da herdabilidade clonal para as três variáveis analisadas foram elevadas (Tabela 6), sugerindo que a seleção de clones com base nestas variáveis é efetiva.

Tabela 6. Herdabilidade clonal para a área da lesão ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em 15 clones de cacaueiro inoculados no campo

Variável	h <sup>2</sup>
Área	0,81
Altura	0,78
Largura	0,93

Na Figura 4, os 11 clones testados em ambos os ensaios (BB 1 33; FSU 77 e 127; PH 16; SCS 20; TSH 1188; VB 316, 547, 515, 892 e 900) mostraram uma correlação positiva entre as médias das áreas das lesões estimadas nos dois ensaios ( $r = 0.76^{**}$ , Tabela 6) quando inoculados com *C. cacaofunesta*, demonstrando a confiabilidade da metodologia utilizada para inoculação e avaliação na seleção de clones resistentes à murcha-de-ceratocystis.

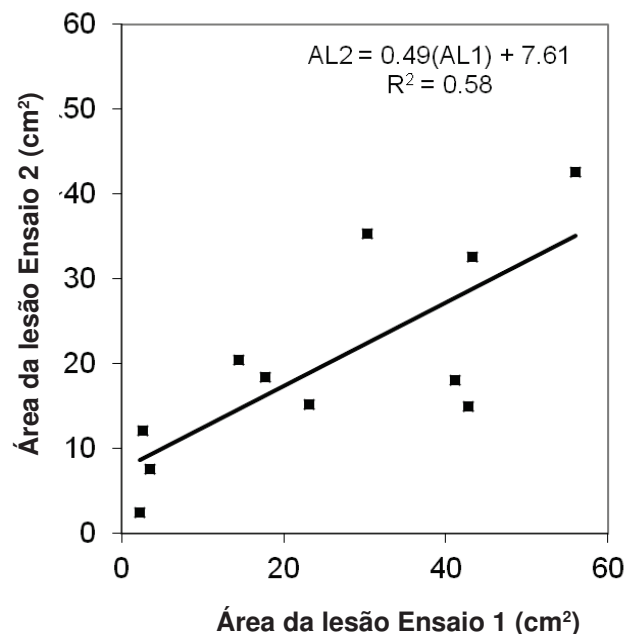


Figura 4. Área da lesão ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em 11 clones de cacaueiro inoculados no campo em ambos os ensaios (Ensaio 1 e 2).

Pelo método de Scott-Knott a 5%, no Ensaio 2 formaram-se oito grupos com os 15 clones testados (Tabela 7). No caso, os clones TSH 1188, IMC 67 e JACA foram os mais resistentes apresentando uma variação na média lesionada de 2,47 a 4,44 cm<sup>2</sup>. Nos dois ensaios, o clone TSH 1188 foi o que apresentou a menor média de lesão confirmando, também, a sua resistência, quando inoculado em condições de campo. Este clone foi e está sendo usado como padrão de resistência em ensaios de progênies em casa de vegetação e a sua reação tem permanecido ao longo dos anos. Os clones BB 1 33 e SCS 20 embora tenham apresentado área média de lesão de 7,64 e 12,14 cm<sup>2</sup>, respectivamente, não foram incluídos ao grupo dos resistentes como foram no Ensaio 1, quando a área média de lesão foi inferior a 4,0 cm<sup>2</sup>.

O clone VB 316 com lesão média de 55,98 cm<sup>2</sup> foi o de maior suscetibilidade neste ensaio, repetindo a mesma classificação que obteve no Ensaio 1, seguido pelos clones VB 892, FSU 77 e 127, CSF 22 e ICS 1 que apresentaram valores da média da área lesionada acima de 20cm<sup>2</sup>. O clone CSF 22 confirmou a sua suscetibilidade, que no Ensaio 1 causou a morte de todos os ramos inoculados. Os clones VB 892 e FSU 127 apresentaram-se como suscetíveis com área média

de lesão acima de 40 cm<sup>2</sup>, mantendo a mesma classificação em ambos os ensaios. O clone ICS 1 foi selecionado para este ensaio, pela sua suscetibilidade à murcha-de-ceratocystis em cacaueiro relatada desde os anos 50 e 60, quando houve a morte de cerca de 35.000 plantas (Delgado, 1964). Este também foi citado como suscetível em observações feitas em campo por Soria (1973), e, por Silva et al. (2004, 2007) e Sanches (2007) em testes com progênies em casa de vegetação. Porém, com o número de clones testados, o ICS 1, usado como padrão de suscetibilidade, deixou de ser por terem sido encontrados clones mais suscetíveis, como cita Silva et al. (2007).

No grupo dos intermediários, com uma variação de média lesionada de 15 a 21 cm<sup>2</sup>, os clones VB 547 e 900 apresentaram o mesmo comportamento em ambos os ensaios, enquanto o VB 515 foi agrupado como resistente e o PH 16 como suscetível, no Ensaio 1.

A metodologia de inoculação preconizada para cacaueiros adultos no campo e a análise dos dados mostraram-se eficientes e permitiram a definição de grupos de clones em relação à sua reação ao patógeno, sugerindo sua aplicabilidade em trabalhos posteriores. Porém, no campo, o trabalho é maior pelo tempo gasto e a dificuldade de selecionar plantas e ramos, que atendam as exigências para efetuar a inoculação. Outro fator é o risco de trabalhar com o patógeno na área, e, para evitar a sua disseminação, todo material inoculado deve ser retirado e após a avaliação, incinerado. Diante do exposto sugere-se que os experimentos com progênies dos clones e com maior repetitividade sejam utilizados como uma rotina na seleção de clones resistentes à murcha-de-ceratocystis, devido a maior homogeneidade das amostras e dos resultados serem aplicados com precocidade no Programa de Melhoramento Genético do Cacaueiro (PMGC) do Cepec.

### Agradecimentos

A Bruno Ferreira Oliveira pela colaboração na execução dos trabalhos.

### Literatura Citada

ALARCON, C. R. M. 1994. Determinación de resistencia de 250 clones de cacao de origen nacional al ataque de mal de machete. Graduation

Tabela 7. Área da lesão ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em 15 clones de cacaueiro inoculados no campo (Ensaio 2)

Clone	Área (cm <sup>2</sup> )	
TSH-1188	2,47	i*
IMC-67	2,89	I
JACA	4,44	I
SCS-20	7,64	H
BB-1-33	12,14	G
VB-900	14,97	F
VB-547	15,26	F
PH-16	18,03	E
VB-515	18,43	E
FSU-77	20,44	E
ICS-1	23,87	d
CSF-22	25,03	d
FSU-127	32,66	c
VB-892	35,38	b
VB-316	42,57	a

\*Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo método de Scott-Knott ( $\alpha = 5\%$ ).

- Thesis. Guayaquil, Universidad Agraria del Ecuador
- ALMEIDA, L. C. C. de et al. 2005. Distribuição geográfica da murcha de *Ceratocystis* do cacauero na Bahia, Brasil. *Agrotrópica* (Brasil) 17: 83-86.
- BEZERRA, J. L. 1997. *Ceratocystis fimbriata* causing death of budded cocoa seedlings in Bahia, Brazil. *Incoped Newsletter* 1:6.
- BEZERRA, J. L. et al. 1998. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* em clones de cacau no estado da Bahia. *Fitopatologia Brasileira* 23: 228 (Resumo 117).
- CRUZ, C. D. 2001. Programa genes versão Windows- Aplicação computacional em genética e estatística. Viçosa, MG, UFV. 648p.
- DELGADO, A. J. 1964. Estudio de la resistencia del cacao al mal de machete producido por *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Holsted. Turrialba, Costa Rica. IICA. 42p.
- DELGADO, A. J., ECHANDI, E. 1965. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal del machete provocado por *Ceratocystis fimbriata*. Turrialba (Costa Rica) 15:86-89.
- DIAS, L. A. S. 2001. Melhoramento genético do cacauero. Viçosa, MG. FUNAPE, 578p.
- DOMINGUEZ, R. P. F.; VELASQUEZ, F. 1972. Selección de plantas de caño (*Theobroma cacao* L.) por resistencia al hongo *Ceratocystis fimbriata*. *Revista de la Facultad de Agronomía* (University of Venezuela) 6:57-73.
- GUERRERO, H. A. M. 1975. Estudio de la resistencia a *Ceratocystis fimbriata* Ellis y Halst., em híbridos y clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) utilizando dos métodos de evaluación. (Masters Thesis). Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba, Costa Rica. 62p.
- OLIVEIRA, B. F. 2009. Identificação de fontes de resistência a *Ceratocystis cacaofunesta* em mudas de cacauero. *Agrotrópica* (Brasil) 21:83-88.
- PEREIRA, J. L. et al. 1989. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotrópica* (Brasil) 1(1):79-81.
- SANCHES, C. L. G. et al. 2008 Assessment of resistance to *Ceratocystis cacaofunesta* in cocoa genotypes. *European Journal of Plant Pathology* 122:517-528.
- SANCHES, C. L. G. 2007. Murcha-de-ceratocystis (*Ceratocystis cacaofunesta*) no sul da Bahia: metodologia para seleção de genótipos de cacauero resistentes e estudos preliminares descritivos do patógeno. Dissertação Mestrado. Ilhéus, UESC. 61p.
- SAS INSTITUTE. 1989. SAS/STAT User's guide. Cary, SAS Institute Inc. 943p.
- SILVA, S. D. V. M. et al. 2012. Resistência de progêneos de cacaueros à murcha-de-*Ceratocystis*. *Tropical Plant Pathology* 37: 191-193.
- SILVA, S. D. V. M. et al. 2010. Avaliação de clones de cacaueros selecionados no sul da Bahia para resistência a *Ceratocystis cacaofunesta*. *Agrotrópica* (Brasil) 22:165-170.
- SILVA, S. D. V. M. et al. 2007. Indicações de resistência à murcha-de-*Ceratocystis* em clones de cacaueros no sul da Bahia, Brasil. In: International Cocoa Research Conference, 15th, Proceedings. San Jose, Costa Rica. Cocoa Producer's Alliance 2: 967.
- SILVA, S. D. V. M. 2005. Ensaio para avaliação do cacauero à murcha de *Ceratocystis* na Bahia, Brasil. In: International Cocoa Research Conference, 14<sup>th</sup>, Proceedings. Accra, Ghana. Cocoa Producer's Alliance 2:1341-1347.
- SILVA, S. D. V. M. 2004. Cacau Jaca resistente a *Ceratocystis fimbriata* na região cacauera da Bahia, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 29:538-540.
- SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N. 2000. *Ceratocystis fimbriata* em cacaueros das variedades cultivadas na Bahia. *Fitopatologia Brasileira* 25:424 (Resumo).
- SORIA, V. J. 1973. Influencia de la edad de las plantas em la aparición de los sintomas de susceptibilidade a *Ceratocystis fimbriata* em cacao. Turrialba (Costa Rica) 23:231-233.

## URINA DE VACA E FOSFITO DE COBRE NO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE TOMATEIRO

*Leônidas Leoni Belan, Elias Terra Werner, Gustavo Martins Sturm, Sara Coser, José Augusto Teixeira do Amaral*

Universidade Federal do Espírito Santo - Centro de Ciências Agrárias, UFES-CCA, 9500-000, Alegre, ES.  
leonidas\_agronomia@yahoo.com.br

Analisou-se o efeito da aplicação de urina de vaca e fosfito de cobre sobre o crescimento e o desenvolvimento de mudas de tomateiro cv. "Santa Adélia". Houve influência negativa do fosfito sobre o crescimento das plantas aos 14 dias após a aplicação (DAAp), reduzindo a efeito da urina de vaca sobre o crescimento das mudas. A associação entre os tratamentos (urina de vaca e fosfito de cobre) não apresentou efeito significativo sobre a massa seca das mudas, variando em função da concentração e ao longo do tempo. Relata-se menor desenvolvimento em altura e menor acúmulo de massa seca quando as plantas foram tratadas com urina de vaca em concentrações acima de 8,23%. A razão raiz/parte aérea (R/PA) foi reduzida com aumento da concentração de urina tanto nos tratamentos sem e com fosfito de cobre, independentemente da época de avaliação. Aos 7 DAAp, a taxa de crescimento relativo da massa seca total (TCRmst) aumentou com o aumento nas concentrações de urina de vaca com fosfito de cobre. Contudo, independente da presença ou ausência de fosfito de cobre, a TCRmst diminuiu comparando-se as avaliações feitas aos 7 e 14 DAAp. Em ambos os tratamentos, as maiores taxas de crescimento das plantas (altura e massa seca total) ocorreram nos primeiros 7 DAAp.

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum* L., análise de crescimento, biofertilizante.

**Cow urine and phosphite copper in the growth and development of tomato seedlings.** The growth and development of seedlings of tomato cv. "Santa Adélia" were treated with cow urine and phosphite copper solution, and analyzed. There was a negative impact of phosphite on the growth of plants to 14 DAAp, reducing the effect of cow urine on growth of the seedlings. The association between treatments (cow urine and phosphite copper) had no significant effect on the dry weight of seedlings, varying in function of the concentration and in over time for the variables analyzed (MST, ALT, TCRalt, TCRmst, R/PA). It is reported that there was less development in height and lower dry matter accumulation when the seedlings treated with cow urine at concentrations above 8.23%. The ratio R/PA decreased with increasing concentration of urine in both treatments with and without phosphite copper, regardless of the time of the evaluation. At 7 DAAp, TCRmst presented an increasing trend with increasing concentrations of cow urine with phosphite copper. However, regardless of the presence or absence of phosphite copper, the TCRmst decreased compared to the assessments made at 7 and 14 DAAp. In both treatments, the highest plant growth rates (TCRmst and TCRalt) occurred in the first 7 DAAp.

**Key words:** *Solanum lycopersicum* L., growth analysis, biofertilizer.



## Introdução

O tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) é uma das mais importantes hortaliças cultivadas no mundo. O Brasil é o oitavo produtor mundial com uma produção anual de 3,8 milhões de toneladas (FAO, 2008) em uma área plantada de 50 mil hectares (FNP, 2008). A espécie é também uma das mais consumidas por todas as classes sociais da população, cultivada em todos os estados e em sistemas de produção convencional e orgânico (Duarte et al., 2007).

Uma das mais importantes etapas do sistema de produção do tomateiro é a formação das mudas, influenciando diretamente o desempenho final das plantas nos campos de produção (Minami e Puchala, 2000). Mudas mal formadas debilitam e comprometem todo o desenvolvimento do cultivo, prolongando seu ciclo e levando a perdas na produção (Guimarães et al., 2002). Considerando o custo das instalações e dos insumos, é recomendável acelerar o desenvolvimento dessas mudas para garantir maior lucratividade (Pereira et al., 2007).

A suplementação de substratos com adubos minerais solúveis é estratégia comumente adotada para assegurar crescimento rápido das mudas, melhorando sua qualidade e antecipando o transplantio para o campo (Barbosa, 1999). Porém, no que diz respeito à agricultura orgânica, essa prática não é admitida pelas normas técnicas de produção vigentes (Brasil, 2001), justificando estudos sobre o emprego de insumos alternativos às formulações NPK, com destaque para a urina de vaca e fosfitos (Ormond et al., 2002).

A urina de vaca é um resíduo orgânico que possui em sua constituição nutrientes, como nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, boro, cobre, zinco, sódio, cloro, cobalto, molibdênio e alumínio, compostos fenólicos e ácido indolacético (AIA), que é um hormônio natural de crescimento de plantas (Fernandes, 2000, Boemeke, 2002); além de microrganismos atuantes na decomposição da matéria orgânica (Bettiol et al., 1998). No Brasil, pesquisas têm sido conduzidas visando avaliar o efeito da aplicação de urina de vaca sobre o desenvolvimento e produção de diversas culturas como: abacaxi (Gadelha et al., 2002), alface (Gadelha et al., 2003), pimentão (Oliveira et al., 2004), feijão-vagem (Ramalho et al., 2003), inhame (Soares et al., 2003), tomate (Moraes et al., 2011), dentre outras.

O fosfito, forma reduzida de fosfato, está sendo amplamente comercializado em diversos países como fertilizante e fungicida (Smillie et al., 1989, Schroetter et al., 2006). A recomendação de sais de fosfito como fertilizante está relacionada ao fato desse ânion encontrar-se ligado com algum nutriente, sendo um excelente complexante que favorece a absorção de cálcio, boro, zinco, manganês, molibdênio e potássio e outros elementos (Nojosa et al., 2005, Vitti et al., 2005, Schroetter et al., 2006). Embora os fosfitos sejam reconhecidos como potencializadores da resistência de plantas a patógenos, o seu potencial como fertilizante precisa ser estudado. Informações sobre como os fosfitos afetam o crescimento e a qualidade das plantas ainda não foram estabelecidas (Thao et al., 2009).

O acúmulo de massa seca e o incremento em altura pelas plantas, quantificados em função do tempo, são utilizados na estimativa de vários índices fisiológicos relacionados às diferenças de desempenho sobre diferentes tratamentos (Nieuwhof et al., 1991; Fayad et al., 2001; Santos et al., 2004; Conceição et al., 2005; Duarte et al., 2007; Nery et al., 2007). Normalmente, estes índices são a taxa de crescimento absoluto, taxa de crescimento relativo, razão raiz/parte aérea, taxa assimilatória líquida, razão de área foliar e a razão de peso foliar, dentre outros (Pereira e Machado, 1987, Benincasa, 2003).

Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da aplicação de urina de vaca e fosfito de cobre sobre o crescimento e desenvolvimento de mudas de tomateiro cv. “Santa Adélia”.

## Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação no Campus do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES, sendo realizado em dois ensaios consecutivos. O primeiro foi realizado no período de 03 de Setembro a 01 de Outubro de 2010 e o segundo no período de 22 de Outubro a 19 de Novembro de 2010.

### Primeiro Ensaio

Foram avaliadas mudas de tomateiro da cultivar “Santa Adélia” produzidas em bandejas de poliestireno expandido (isopor) com 128 células preenchidas com

substrato comercial (Vivato Slim®), composto por moinha de carvão vegetal, casca de pinus e turfa. O ensaio foi instalado em esquema fatorial 5x2x2, sendo o fator urina de vaca em cinco níveis (0, 5, 10, 20 e 50% v/v) (Aldrighi et al., 2002; Boemeke et al., 2002), o fator fosfito de cobre (Fulland®) em dois níveis (presença-0,2% v/v (1 L p.c. 500 L<sup>-1</sup> de água) ou ausência), e o fator época de avaliação em dois níveis (sete e quatorze dias após a primeira aplicação dos tratamentos - DAAP), em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Cada bandeja com 128 mudas sendo todas úteis foi considerada uma parcela experimental (tratamento) num total de 10 bandejas (cinco concentrações de urina de vaca, com ou sem adição de fosfito de cobre). Foram consideradas cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída pela média de três mudas selecionadas ao acaso em cada parcela experimental.

A primeira aplicação dos tratamentos foi realizada via irrigação, quando as plântulas apresentavam a primeira folha definitiva; e a segunda, respectivamente, aos sete dias após a primeira aplicação. Padronizou-se um volume de solução de 0,5 litros/bandeja aplicadas com auxílio de um regador, em períodos do dia com temperatura amena ( $\pm 25$  °C). Todas as demais irrigações foram realizadas por aspersão de água deionizada.

Foram realizadas duas avaliações do efeito dos tratamentos, sendo uma aos sete e outra aos quatorze dias após a primeira aplicação (respectivamente, 7 e 14 DAAP). As variáveis analisadas foram: altura da planta (ALT) e massa seca total (MST). As mudas foram retiradas ao acaso de cada bandeja, e o sistema radicular lavado em água corrente. A altura foi quantificada com auxílio de um escalímetro milimetrado e a massa seca total determinada através de pesagem em balança de precisão após permanência do material em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 70 °C, até peso constante.

A urina de vaca utilizada foi coletada durante a ordenha de rebanho bovino mestiço, na fazenda experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo onde os animais são submetidos ao manejo convencional. Esse material foi acondicionado em embalagens fechadas e armazenadas por 15 dias à temperatura ambiente ( $\pm 25$  °C).

## Segundo Ensaio

O ensaio foi instalado em esquema fatorial 4x2x2, sendo o fator urina de vaca em quatro níveis (0, 2, 4, e 7% v/v) (definidas com base nos resultados do primeiro ensaio), o fator fosfito de cobre (Fulland®) em dois níveis (presença-0,2% v/v (1 L p.c. 500 L<sup>-1</sup> de água), ou ausência); e o fator época de avaliação em dois níveis (sete e quatorze DAAP), em DIC, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por três mudas.

Foram quantificadas a altura e a massa seca total conforme descrição anterior. As variáveis analisadas foram: Razão raiz/parte aérea (R/PA) da massa seca; taxa de crescimento relativo da altura (TCRalt) (mm mm<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) e taxa de crescimento relativo da massa seca total (TCRmst) (g g<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) (Eq. 1) (Vale et al., 2004).

$$TCR = (\ln A2 - \ln A1)/(T2 - T1) \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que:

A1 e A2: São as massas seca, ou alturas, de duas amostragens sucessivas.

T1 e T2: Épocas de amostragem.

## Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias do fator quantitativo (concentrações de urina de vaca) foram comparadas através da análise de regressão, sendo os modelos escolhidos com base no coeficiente de determinação, quadrado médio do resíduo, significância dos coeficiente de regressão ( $\beta_0$  e  $\beta_1$ ), análise do resíduo e adequação do modelo para descrição dos dados, adotando-se os níveis de 1 e 5% de probabilidade pelo teste *F*. Modelos não significativos não foram apresentados.

## Resultados e Discussão

### Primeiro Ensaio

O tratamento com 50% de urina de vaca na solução proporcionou fitotoxidez nas mudas de tomateiro, limitando o desenvolvimento das mesmas. No referido tratamento, decorridas 24 horas após a primeira aplicação da solução já se observava sintomas de injúrias nas plantas, como escaldadura e necrose, o que levou a morte das mesmas. Devido ao fato, o

tratamento com a dose 50% foi excluído das análises estatísticas.

Semelhante a este estudo, Oliveira et al. (2008) estudaram a resposta de plantas de mamoneira (*Ricinus communis* L.) cultivar “BRS Energia”, à aplicação de níveis crescentes de urina de vaca. Segundo esses autores, a aplicação com urina de vaca pura (100%) provocou injúria em 47,17% das folhas. Nesse estudo, mudas de tomateiro cv. “Santa Adélia” sofreram injúrias provocadas pela dose 50%, ou seja, metade da dose utilizada por Oliveira et al. (2008), o que foi suficiente para levar as mudas de tomateiro à morte. De modo semelhante, Cesar et al. (2007) em um experimento com mudas de pepino, relataram que em bandejas tratadas com soluções contendo mais de 40% de urina de vaca, a massa seca das plântulas de pepino foi inferior a do tratamento controle (sem urina de vaca).

Na Tabela 1 está representado o resumo da análise de variância, onde observa-se pelo teste *F*, a significância das interações entre os fatores para as variáveis ALT, MST, razão R/PA, TCRmst e TCRalt.

Quanto à variável altura das plantas, houve influência do fator fosfito de cobre ( $p \leq 0,05$ ) no desenvolvimento das mudas de tomateiro. A altura máxima das plantas nos tratamentos sem fosfito, aos 7 e aos 14 DAAP e as respectivas concentrações de urina de vaca foram: 53,6 mm (8,59 % de urina de vaca) e 126,8 mm (10,16% de urina de vaca) ( $p \leq 0,05$ , Figura 1).

Nos tratamentos com adição de fosfito de cobre, houve influência negativa do fosfito sobre o crescimento das plantas aos 14 DAAP. A concentração de urina de vaca (10,16%) que proporciona altura máxima (126,83 mm) as plantas na ausência de fosfito, tem seu efeito reduzido quando aplicada juntamente com o mesmo. Para essas condições, e com base no modelo de regressão (Figura 1), a altura máxima das plantas tratadas com solução contendo 10,16% de urina de vaca + fosfito de cobre, seria 119,17 mm, ou seja, inferior ao ocorrido para a condição de ausência de fosfito (126,83 mm). Aos 7 DAAP não houve efeito das doses de urina de vaca sobre a altura das plantas ( $\hat{y} = \square = 47,82$  mm) (Figura 1).

Alguns estudos têm mostrado que o fosfito não é utilizado pelas plantas como fonte de fósforo, podendo inclusive causar efeitos negativos sobre o crescimento das mesmas (Schroetter et al., 2006, Araújo, 2008). O fosfito pode reduzir a atividade da fosfatase ácida, enzima que sob condições de baixa disponibilidade de fósforo tem sua atividade aumentada com a finalidade de converter fósforo orgânico em fósforo inorgânico (Araújo, 2008). Segundo Araújo (2008), nessas situações a planta não converte os fotoassimilados sintetizados em aumento de produção de tecido radicular, o que resultaria em menor volume de solo explorado e possivelmente em menor absorção de nutrientes e seu consequente desenvolvimento. A baixa

Tabela 1. Resumo da análise da variância, demonstrando a significância do teste *F* para altura (ALT), massa seca total (MST), razão raiz/parte aérea (R/PA), taxa de crescimento relativo da massa seca total (TCRmst) e da altura (TCRalt), de tomateiro cultivar “Santa Adélia” tratadas com soluções contendo concentrações crescentes de urina de vaca, com e sem adição de fosfito de cobre, avaliadas aos 7 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	<i>p valor</i>				
		Ensaio 1		Ensaio 2		
		ALT	MST	R/PA	TCRmst	TCRalt
Tempo (T)	1	2,20e <sup>-16</sup> **	2,20e <sup>-16</sup> **	1,56e <sup>-16</sup> **	2,20e <sup>-16</sup> **	2,20e <sup>-16</sup> **
Urina (U)	3	2,20e <sup>-16</sup> **	3,84e <sup>-08</sup> **	6,49e <sup>-08</sup> **	3,51e <sup>-03</sup> *	9,75e <sup>-05</sup> **
Fosfito (F)	1	0,17	0,52	0,67	0,89	7,92e <sup>-06</sup> **
T:U	3	4,77e <sup>-13</sup> **	9,44e <sup>-05</sup> **	0,36	7,30e <sup>-04</sup> **	1,11e <sup>-03</sup> *
T:F	1	5,26e <sup>-03</sup> **	0,89	7,11e <sup>-04</sup> **	0,24	0,53
U:F	3	8,64e <sup>-07</sup> **	0,05*	4,03e <sup>-06</sup> **	0,11	0,35
T:U:F	3	5,63e <sup>-04</sup> **	0,70	0,32	3,06e <sup>-04</sup> **	3,22e <sup>-04</sup> **
Resíduo	64	-	-	-	-	-
CV (%)	-	7,2	12,7	8,7	8,9	11,2

\*\*, \* significativos a 0,01 e 0,05 de probabilidade, respectivamente; CV (%): coeficiente de variação em percentagem.

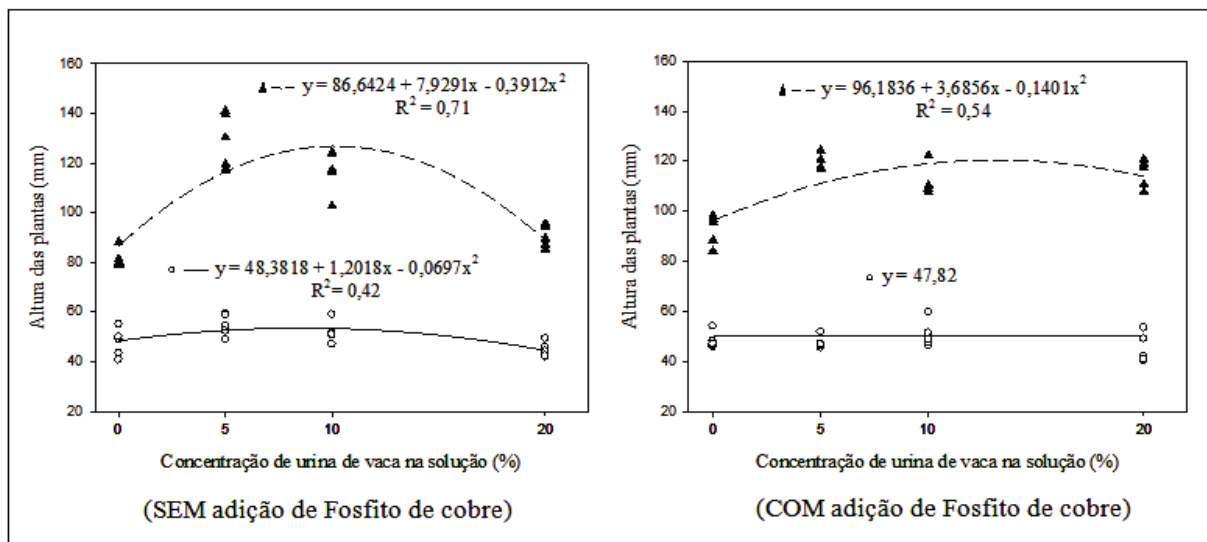


Figura 1. Altura das mudas de tomateiro cultivar "Santa Adélia" tratadas com soluções contendo concentrações crescentes de urina de vaca, com e sem adição de fosfito de cobre, avaliadas aos 7 (○ —) e 14 dias (▲ ---) após a aplicação dos tratamentos ( $p \leq 0,05$ ).

disponibilidade de nutrientes minerais nos substratos organominerais comumente utilizado para produção de mudas (Barbosa, 1999), como nesse estudo, pode-se justificar o menor desenvolvimento das plantas que receberam os tratamentos contendo fosfito de cobre, independente da concentração de urina de vaca.

Para evitar o plantio de mudas estioladas em campo, produtores têm realizado o condicionamento do crescimento das mudas, ou seja, aplicando algum estímulo químico ou físico, ou estresse aplicado às mudas, visando regular o crescimento e a qualidade das mesmas (Latimer, 1991; Bovi e Minami, 1999). Nesse sentido, Pereira et al. (2007) descrevem que mudas de tomateiro pulverizadas com produtos a base de cobre podem ter o crescimento reduzido. Com base nessas afirmativas, os resultados deste estudo indicam que o fosfito de cobre pode ser utilizado como condicionante de crescimento, visando minimizar o estiolamento das mudas de tomateiro.

A aplicação de fosfito de cobre em associação com as doses de urina de vaca não apresentou efeito significativo sobre a massa seca das mudas de tomateiro (Tabela 1). Verifica-se que apesar do menor crescimento em altura das mudas de tomateiro nos tratamentos com adição de fosfito, essa diferença não foi significativa para a variável massa seca total (Figuras 1 e 2).

Assim como nesse estudo, outras pesquisas comprovaram efeito da urina de vaca sobre o crescimento

e desenvolvimento de várias culturas. Gadelha et al. (2003) verificaram acréscimo de 10,3% na massa fresca das plantas de alface, em relação à testemunha, com a aplicação no solo de solução de urina de vaca na concentração de 5,0%. Ramalho et al. (2003) relataram que a produção de vagens em feijão-vagem foi influenciada positivamente pela urina de vaca na concentração de 4,6%. Para a cultura do tomateiro,

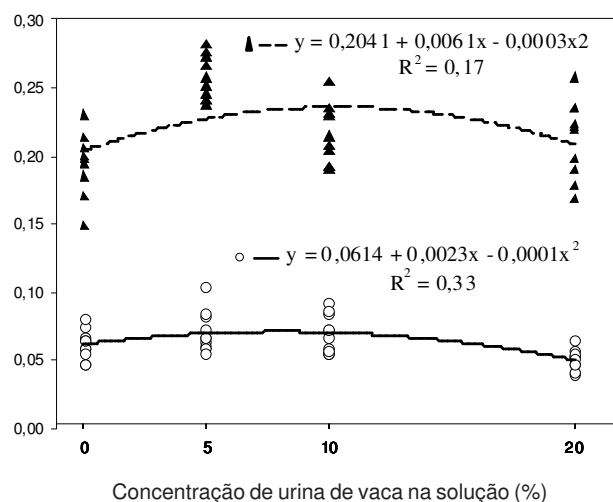


Figura 2. Massa seca total de mudas de tomateiro cultivar "Santa Adélia" tratadas com soluções contendo concentrações crescentes de urina de vaca, avaliadas aos 7 (○ —) e 14 dias (▲ ---) após a aplicação dos tratamentos ( $p \leq 0,05$ ).

Moraes et al. (2011) concluíram que a suspensão aquosa de urina de vaca a 30% promoveu um maior crescimento das mudas.

Thao et al. (2009) investigaram o efeito do fosfito em relação ao fosfato (Pi) sobre o crescimento e parâmetros de qualidade da alface (*Lactuca sativa* L.). Em contraposição as afirmações dadas por Schroetter et al. (2006) e Araújo (2008) em que o fosfito não é utilizado pelas plantas como fonte de fósforo, Thao et al. (2009) afirmam que a adição de fosfito a solução nutritiva aumentou significativamente o teor de fósforo total em brotos e raízes de plantas de alface. No entanto esses autores não verificaram maior crescimento da planta, indicando que o fosfito foi absorvido pelas raízes e móvel no interior das plantas, mas não influenciou no desenvolvimento das mesmas.

Neste estudo, a semelhança entre os tratamentos com e sem adição de fosfito quanto a variável massa seca total pode ter sido ocasionado pela absorção e acúmulo pelas plantas dos nutrientes contido no produto comercial (Fulland®) (cobre, enxofre, etc), compensando o acúmulo de massa seca devido ao maior desenvolvimento em altura ocorridos nos demais tratamentos.

A concentração de urina de vaca que proporcionou máximo acúmulo de MST, aos 7 e 14 dias foram, respectivamente, 7,6 % e 9,9 % (Figura 2). A urina de vaca aplicadas sobre as plantas tem efeito fertilizante, fortificante (estimulante de crescimento) e também repelente a insetos devido ao cheiro forte (Fernandes, 2000). Da mesma forma que neste estudo, Cesar et al. (2007) observaram que a aplicação da solução de urina de vaca estimulou significativamente o desenvolvimento de mudas de pepino, e que a resposta máxima ocorreu com a concentração de 20%.

Dentro do intervalo de concentrações de urina de vaca analisado neste estudo, observa-se um menor desenvolvimento em altura das plantas, assim como menor acúmulo de massa seca quando da aplicação de urina de vaca em concentrações acima de 8,23%, em média ( $p \leq 0,05$ , Figuras 1 e 2). Consequentemente, concentrações acima desse limite são prejudiciais ao desenvolvimento das plantas e qualidade das mudas. Neste caso, soluções de urina de vaca nas concentrações  $\leq 8,23\%$  são promissoras de bons resultados e requerem estudos mais detalhados sobre sua influência no crescimento e desenvolvimento das mudas de tomateiro.

Como nos tratamentos com adição de fosfito de cobre, não houve influência da urina de vaca aos 7 DAAP, onde o efeito foi se manifestar aos 14 DAAP ( $p \leq 0,05$ , Figura 1), ou seja, os efeitos combinados desses tratamentos - urina de vaca e fosfito de cobre - no crescimento e desenvolvimento das mudas variam em função da concentração e também ao longo do tempo.

### Segundo Ensaio

A análise de crescimento do primeiro ensaio revelou que a aplicação de soluções de urina de vaca em concentrações abaixo de 8,23% (v/v) resulta em maior desenvolvimento e, consequentemente, menor efeito nocivo às plantas, justificando a realização de um segundo ensaio com doses de urina variando na concentração de 0 a 7%.

A significância da interação dos fatores - tempo, urina e fosfito - foi observada nas TCR analisadas (TCR<sub>mst</sub> e TCR<sub>alt</sub>). Na razão R/PA houve interação dupla significativa entre os fatores urina e fosfito (Tabela 1). Estas significâncias embasaram a análise de regressão do fator quantitativo urina relacionado aos demais fatores (tempo e fosfito).

A razão R/PA é uma correlação de desenvolvimento, expressando o fato de que o crescimento radicular pode afetar o da parte aérea e vice-versa (Goss, 1973). Essa variável foi reduzida com aumento da concentração de urina tanto nos tratamentos sem e com fosfito de cobre, comportamento este relacionado a uma maior incorporação de biomassa na parte aérea das mudas em relação ao sistema radicular. Esse comportamento foi verificado independentemente da época de avaliação.

Os elementos minerais (N, K, S, etc) presentes na urina de vaca podem ter sido absorvidos diretamente pelos tecidos da parte aérea das plantas e atendido as necessidades das mesmas, não sendo estimulado o crescimento radicular das mudas que receberam aplicação de urina de vaca. Tal fato é justificável pois verificou-se maior desenvolvimento da parte aérea das mudas, em relação ao desenvolvimento radicular, à medida que se aumenta a concentração de urina de vaca na solução (Figura 3). Segundo Moroni et al. (2003) e Oliveira Neto (1996), é de se esperar que plantas apresentem sistema radicular mais desenvolvido quando submetidas à deficiência hídrica, e menor desenvolvimento quando em disponibilidade



hídrica e fertilidade adequada do solo. Nesse estudo, parte das exigências nutricionais das plantas pode ter sido atendida pela aplicação da urina de vaca via foliar. De acordo com Duarte et al. (2007), a urina de vaca

contém sais minerais em faixa de pH acima da considerada ideal pela FAO (1990), que deve estar situada entre 5,8 e 6,2, favorecendo a nutrição das plantas tratadas com esse produto. Aldrighi et al. (2002) também obtiveram melhor crescimento de mudas de tomateiro com a aplicação de solução de urina.

A TCRmst expressa o incremento de massa seca em relação a uma biomassa pré-existente (Conceição et al., 2005). Esta variável apresentou comportamento crescente aos 7 DAAP, diante do aumento nas concentrações de urina com adição de fosfito de cobre. No entanto, não demonstrou ser influenciada pelas diferentes concentrações de urina com adição de fosfito aos 14 DAAP (Figura 4). Nesse sentido, independente da presença ou ausência de fosfito de cobre, a TCRmst diminuiu comparando-se as avaliações feitas aos 7 e 14 DAAP. Resultados semelhantes são descritos por Fayad et al. (2001), indicando decréscimo dessa variável ao longo do ciclo cultural do tomateiro. Segundo Nieuwhof et al. (1991), decréscimos nos valores de TCRmst, ao longo do ciclo, são comuns para a maioria das espécies, inclusive no tomateiro, estando relacionados aos decréscimos na taxa assimilatória líquida e na razão de área foliar. Além disso, esses autores relatam que

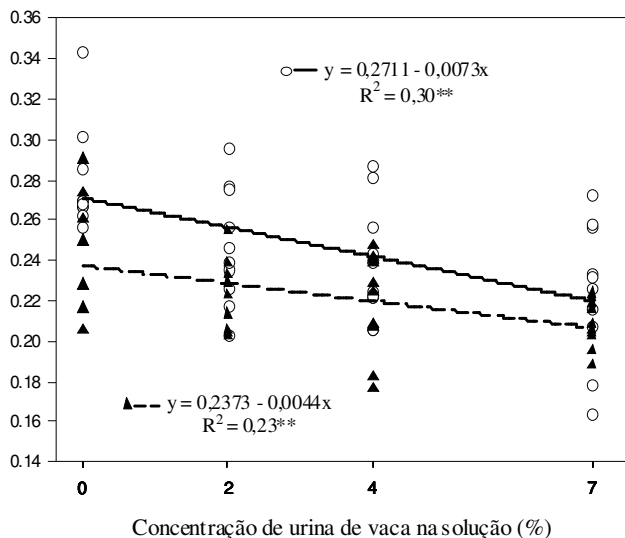


Figura 3. Razão raiz/parte aérea (R/PA) da massa seca de tomateiro cultivar "Santa Adélia" tratadas com soluções contendo concentrações crescentes de urina de vaca, com (O —) e sem (▲ ----) adição de fosfito de cobre ( $p \leq 0,05$ ).

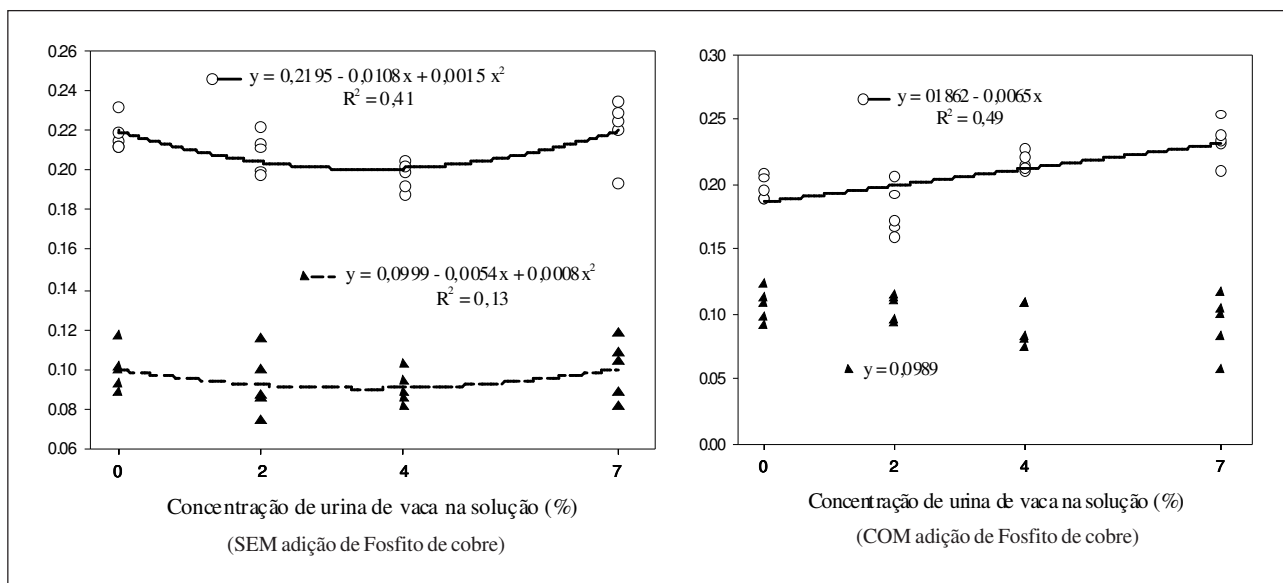


Figura 4. Taxa de crescimento relativo da massa seca total (TCRmst) de tomateiro cultivar "Santa Adélia" tratadas com soluções contendo concentrações crescentes de urina de vaca, com e sem adição de fosfito de cobre, avaliadas aos 7 (O —) e 14 dias (▲ ----) após a aplicação dos tratamentos ( $p \leq 0,05$ ).

a intensidade desses efeitos sobre a TCRmst pode variar entre genótipos de tomatesiros.

A TCRalt pode ser considerada um índice de eficiência, uma vez que representa a capacidade da planta em produzir material novo, que é visualizado pelo incremento em altura por altura já existente, em um determinado intervalo de tempo (Santos et al., 2004). Verifica-se que em ambos os tratamentos, as maiores taxas de crescimento das plantas, ocorreram nos primeiros 7 DAAP. Ainda assim, nos dois períodos avaliados houve uma variação neste índice em ambas as condições com ou sem fosfito de cobre (Figura 5). Tal fato sugere que as mudas de tomateiro da cultivar em estudo apresentaram crescimento em ritmos variáveis durante seu desenvolvimento, o que pode ter sido influenciado por variações climáticas (temperatura, umidade relativa, intensidade de luz solar, etc) durante o período de condução do experimento, consequentemente influenciando nas atividades fisiológicas das plantas. Santos et al. (2004) também observaram variações nas taxas de crescimento durante o ciclo da cultura do tomateiro. Assim como observado para TCRmst, a TCRalt apresentou maior incorporação aos 7 DAAP do que aos 14 DAAP.

## Conclusões

O tratamento com 50% de urina de vaca na solução foi prejudicial ao desenvolvimento das mudas de tomateiro, ocasionando a morte das mesmas, independente da presença ou ausência de fosfito de cobre.

Houve influência do fosfito de cobre no crescimento das mudas de tomateiro, reduzindo a altura das plantas aos 14 DAAP, no entanto não apresentou efeito significativo sobre a massa seca. Logo, fosfito de cobre pode ser utilizado como condicionante de crescimento, visando minimizar o estiolamento das mudas de tomateiro.

Os efeitos combinados da urina de vaca e fosfito de cobre no crescimento e desenvolvimento das mudas variam em função da concentração e ao longo do tempo. Soluções com concentrações acima de 8,23% de urina de vaca são prejudiciais ao crescimento e desenvolvimento das mudas de tomateiro.

A razão R/PA das mudas de tomateiro foi reduzida à medida que se aumentou a concentração de urina tanto nos tratamentos com e sem fosfito de cobre.

Independente da presença ou ausência de fosfito de cobre, as TCRmst e TCRalt são menores aos 14 DAAP do que aos 7 DAAP.

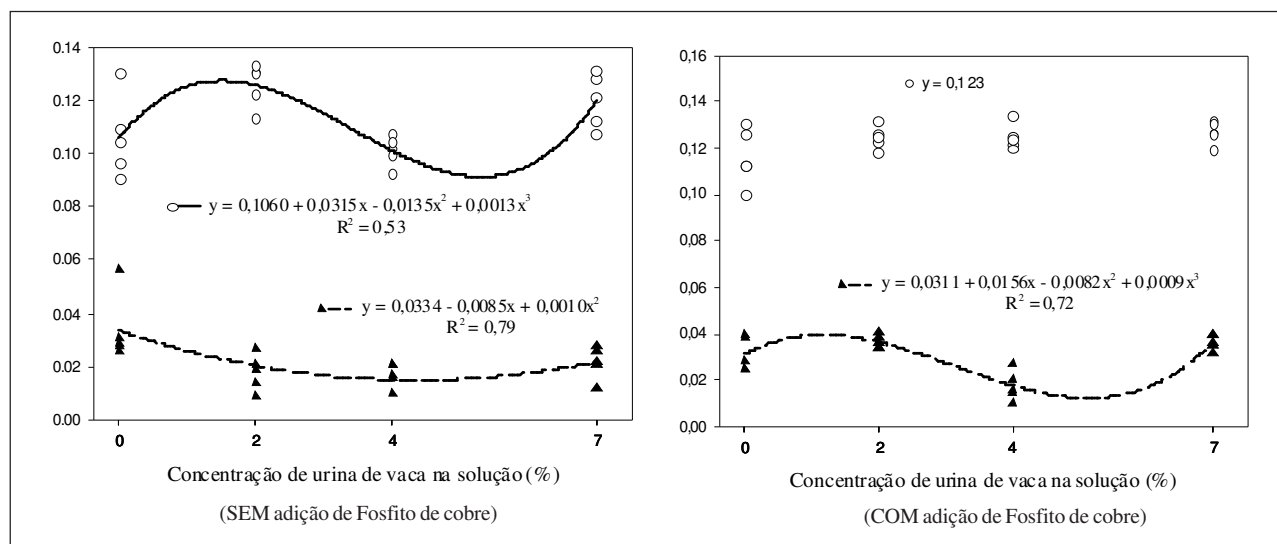


Figura 5. Taxa de crescimento relativo da altura (TCRalt) de tomateiro cultivar "Santa Adélia" tratadas com soluções contendo concentrações crescentes de urina de vaca, com e sem adição de fosfito de cobre, avaliadas aos 7 (○ —) e 14 dias (▲ ---) após a aplicação dos tratamentos ( $p \leq 0,05$ ).

# Literatura Citada

- ALDRIGHI, C. B. et al. 2002. Efeito da aplicação de biofertilizante e urina de vaca em mudas de tomateiro. *Horticultura Brasileira* 20(2):386.
- ARAÚJO, J. L. 2008. Crescimento e nutrição fosfatada do feijoeiro em função da aplicação via radicular e foliar do fosfito. Tese Doutorado. Lavras, MG, UFLA. 77p.
- BARBOSA, A. P. 1999. Adubação foliar com fertilizante orgânico em alface cultivada em hidroponia (sistema NFT). In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 27, Brasília. Anais. Brasília: SBCS. (Resumo Expandido T042-9).
- BENINCASA, M. M. P. 2003. Análise de crescimento de plantas: noções básicas. Jaboticabal, SP, FUNEP. 42p.
- BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J. A. H. 1998. Controle de doenças de plantas com Biofertilizantes. Jaguariúna: EMBRAPA . CNPMA. Circular Técnica, nº 20. 23p.
- BOEMEKE, L. R. 2002. A urina de vaca com fertilizante, fortificante e repelente de insetos. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável (Brasil)* 3(4):41-42.
- BOVI, J. E.; MINAMI, K. 1999. Condicionamentos mecânicos de mudas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Scientia Agricola (Brasil)* 56 (1):97-101.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO. 2001. Portaria n.17, de 10 de abril de 2001. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. pp.9-11.
- CESAR, M. N. Z. et al. 2007. Efeito estimulante da urina de vaca sobre o crescimento de mudas de pepino, cultivadas sob manejo orgânico. *Ensaios e Ciência (Brasil)* 11(1):67-71.
- CONCEIÇÃO, M. K. da; LOPES, N. F.; FORTES, G. R. de L. 2005. Análise de crescimento de plantas de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) cultivares abóbora e da costa. *Revista Brasileira de Agrociência* 11(3):273-278.
- DUARTE, T. da S. et al. 2007. Concentração de nutrientes e crescimento de mudas de tomateiro produzidas em sistema flutuante com biofertilização. *Revista Brasileira de Agroecologia* 2(1):1601-1604.
- FAYAD, J. A. et al. 2001. Crescimento e produção do tomateiro cultivado sob condições de campo e de ambiente protegido. *Horticultura Brasileira* 19 (3):232-237.
- FERNANDES, M. do; C. A. 2000. O biofertilizante Agrobio. Informativo do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia (Brasil) 4(13):1-16.
- FNP. 2008. Agrianual 2008 - Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Instituto FNP. 532p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. 2008. FAOSTAT Agriculture Data. Rome: FAO. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>>. Acesso em: 10 mai. 2010.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. 1990. Soilless culture for horticultural crop production. Rome. FAO Plant Production and Protection Paper nº101. 188p.
- GADELHA, R. S. S.; CELESTINO, R. C. A.; SHIMOYA, A. 2002. Efeito da urina de vaca na produtividade do abacaxi. *Pesquisa Agropecuária & Desenvolvimento Sustentável (Brasil)* 1:91-95.
- GADELHA, R. S. S.; CELESTINO, R. C. A.; SHIMOYA, A. 2003. Efeito da utilização de urina de vaca na produção da alface. *Pesquisa Agropecuária & Desenvolvimento Sustentável (Brasil)* 1:179-182.
- GOSS, J. A. 1973. Physiology of plants and their cells. New York: Pergamon. 457p.
- GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; MINAMI, K. 2002. Métodos de produção de mudas, distribuição de matéria seca e produtividade de plantas de beterraba. *Horticultura Brasileira* 20 (3):505-509.
- LATIMER, J. G. 1991. Mechanical conditioning for control of growth and quality of vegetable transplants. *HortScience* 26(12):1456-1461.
- MINAMI, K.; PUCHALA, B. 2000. Produção de mudas de hortaliça de alta qualidade. *Horticultura Brasileira* 18:162-163.

- MORAES, E. R. de et al. 2011. Efeito da aplicação de suspensão aquosa de urina de vaca sobre o crescimento de mudas de tomate. In: International Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management. 2º. Foz do Iguaçu, Brazil.
- MORONI, M. T.; WORLEDGE, D.; BEADLE, C. L. 2003. Root distribution of *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* in irrigated and droughted soil. *Forest Ecology and Management* 177:399-407.
- NERY, A. R. et al. 2007. Taxas de crescimento do pinhão manso cultivado com água de diferentes níveis de salinidade. In: Workshop Manejo e Controle da Salinidade na Agricultura Irrigada, 1º, 2007, Recife, PE. Anais. Recife-PE, UFRPE/UFCG. 4p.
- NIEUWHOF, M.; GARRETSEN, F.; VAN OEVEREN, J. C. 1991. Growth analyses of tomato genotypes grown under low energy conditions. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 39:191-196.
- NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. 2005. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: Cavalcanti, L.S. et al. eds. *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos*. Piracicaba, SP, USP/FEALQ 1:139-153.
- OLIVEIRA NETO, S. N. 1996. Biomassa, nutrientes e relações hídricas em *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. em resposta a adubação e ao espaçamento. Dissertação Mestrado. Viçosa, MG, UFV. 131p.
- OLIVEIRA, A. P. et al. 2004. Produção de pimentão em função da concentração de urina de vaca aplicada via foliar e da adubação com NPK. *Agropecuária Técnica (Brasil)* 25(1):37-43.
- OLIVEIRA, S. J. C. et al. 2008. Injúrias provocadas pelo uso de urina de vaca como biofertilizantes em folhas de mamoneira (*Ricinus communis* L.). Anais. In: Congresso Brasileiro de Mamona: Energia e Ricinoquímica, 3. EMBRAPA. Salvador - BA.
- ORMOND, J. G. P. et al. 2002. Agricultura Orgânica: quando o passado é futuro. Rio de Janeiro, BNDES. 15:3-34.
- PEREIRA, A. R.; MACHADO, E. C. 1987. Análise quantitativa do crescimento de vegetais. Campinas, SP, Instituto Agrônômico. Boletim Técnico nº 114 .33p.
- PEREIRA, P. R. G.; PUIATTI, M.; MARTINEZ, H. E. P. 2007. Produção de mudas de tomateiro. In: Silva, D. J. H.; Vale, F. X. R. org. *Tomate: Tecnologia de produção*. 1 ed. Visconde do Rio Branco, MG, Suprema Gráfica e Editora Ltda. pp.27-64.
- RAMALHO, C. I. et al. 2003. Rendimento do feijão-vagem adubado com urina de vaca e NPK. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 21º, Recife, PE. Anais. Recife-PE: SOB (CD-ROM).
- SANTOS, R. A. dos; HERNANDEZ, F. B. T.; VALÉRIO FILHO, W. V. 2004. Estimativa da taxa de crescimento relativo da pupunheira (*Bactris gasipaes* hbk) a partir de parâmetros climáticos. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 23º, São Pedro, SP. Anais. São Paulo, SP. UNESP. 4p.
- SCHROETTER, S. et al. 2006. Effects of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (*Zea mays*). *Landbauforschung, Volkenrodxe* 56:87-99.
- SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. 1989. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. *Phytopathology* 79 (9):921-926.
- SOARES, C. S. et al. 2003.. Urina de vaca na adubação foliar do inhame (*Dioscorea* spp.). In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 21. Resumos. Recife: SOB (CD-ROM).
- THAO, H. T. B.; YAMAKAWA, T.; SHIBATA, K. 2009. Effect of phosphite-phosphate interaction on growth and quality of hydroponic lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal. Plant Nutrition and Soil Science* 172(3):378-384.
- VALE, F. X. R. et al. 2004. A quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In: Vale, F. X. R., Jesus Jr., W. C.; Zambolim, L. eds. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Itajaí, SC, Perfil Editora. pp.90-123.
- VITTI, G. C. et al. 2005. A utilização de fosfito em cana-de-açúcar. In: Simpósio de Tecnologia de Produção de Cana-de-açúcar, Piracicaba, SP. Resumos... Campinas, SP, Intercuf Indústria e comércio LTDA. p. 17.

## DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE BETERRABA EM SUBSTRATOS COMERCIAIS TRATADOS COM BIOCHAR

*Stefany Lorryny Lima<sup>1</sup>, Suelen Tamiozzo<sup>1</sup>, Fabiano A. Petter<sup>2</sup>, Beatriz S. Marimon<sup>1</sup>, Ben Hur  
Marimon Junior<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universidade do Estado de Mato Grosso, BR 158,  
Km 654, Caixa Postal 08. 78690-000, Nova Xavantina - MT. stefany\_sll@hotmail.com; bhmjunior@gmail.com.

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí, Rod. BR 135, Km 3, 64900-000, Bom Jesus - Piauí.

Este trabalho objetivou avaliar a influência do biochar no desenvolvimento de mudas de beterraba quando adicionado em substratos comerciais, testando a hipótese de que o produto promove o condicionamento destes substratos devido à sua capacidade de retenção de água e nutrientes, o que melhora o desempenho das plantas. O experimento foi conduzido na Universidade do Estado de Mato Grosso, Nova Xavantina, de novembro a dezembro de 2010 com o uso do delineamento experimental de blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados substratos comerciais com diferentes doses de biochar avaliando-se o desenvolvimento das mudas em altura, diâmetro, massa fresca e seca da parte aérea e radicular e o Índice de Qualidade de Dickson (IQD). A maioria dos parâmetros avaliados foi significativamente maior no substrato Germinar® + 7,5% de biochar, incluindo IQD. Para a massa seca da parte aérea, o tratamento Germinar® apresentou o melhor desempenho. Estes resultados corroboraram a hipótese do presente estudo, confirmando a capacidade de condicionamento de substrato do biochar, mesmo em se tratando de substratos comerciais.

**Palavras-chave:** *Beta vulgaris*, carvão vegetal, hortaliças, produção de mudas

**Development of sugar beet seedlings in commercial substrates treated with biochar.** In this study we evaluated the influence of biochar on the development of beet seedlings in commercial substrates. The objective was to test the hypothesis that biochar promotes the conditioning substrate, improving the performance of plants due to the high water and nutrient retention capacity. The experiment was conducted in November-December 2010 at the State University of Mato Grosso, Nova Xavantina, Brazil. The experimental design was randomized block with six treatments and four replications. We used commercial substrates with different doses of biochar in order to evaluate seedling height, diameter, fresh and dry weight of root and shoot and Dickson Quality Index (IQD). Most of these parameters was significantly higher in the substrate Germinar® + 7.5% biochar, including IQD. For the dry mass of shoots, the treatment Germinar® showed the best performance. These results corroborate the hypothesis of this study, confirming the ability of biochar in conditioning substrate, even in the case of commercial substrates.

**Key words:** *Beta vulgaris*, black carbon, vegetables, seedling production



## Introdução

O perfil atual de consumo se volta cada vez mais para uma alimentação saudável, visando práticas produtivas menos dependentes de insumos químicos. Nesse contexto, o consumo de hortaliças é crescente, exigindo um sistema de cultivo adequado para atender a essas exigências de qualidade do consumidor e ao mesmo tempo garantir quantidade e regularidade do produto (Furlani e Purquerio, 2010). Entre as espécies olerícolas, a beterraba (*Beta vulgaris* L.) apresenta grande importância comercial (Grangeiro et al., 2007), sendo utilizada para consumo *in natura* ou para fabricação de produtos industrializados.

Uma das alternativas para auxiliar o processo produtivo, melhorando a regularidade de fornecimento do produto, é a produção de mudas em bandejas, uma vez que otimiza o uso da mesma área e reduz o ciclo da cultura no campo (Bezerra, 2003). Este sistema apresenta também outras características positivas, como produção de mudas mais uniformes, maior número de plantas por área e melhor controle fitossanitário (Gomes et al., 2008). As bandejas também ajudam a diminuir as perdas em campo, uma vez que a produção de mudas, por ser uma das etapas mais importantes, influencia diretamente na qualidade do produto final (Echer et al., 2007).

A utilização de substratos comerciais é comum na produção de mudas em bandejas (Gomes et al., 2008), sendo um dos principais fatores que determinam a sua qualidade (Bezerra, 2003). Substratos inadequados podem resultar em problemas de germinação, má formação de plântulas e sintomas de deficiência ou excessos nutricionais (Medeiros et al., 2008), comprometendo o desenvolvimento das plantas e consequentemente a produtividade do cultivo. Este fator é limitante principalmente em espécies que apresentam grande exigência nutricional, como é o caso da beterraba (Marques et al., 2010).

Os substratos comerciais são eficientes na formação de mudas de qualidade, mas seu custo é elevado. Uma opção para minimizar essas despesas é o uso de substratos alternativos (Oliveira et al., 2008), como o biochar, que consiste de carvão vegetal moído. Este material apresenta altas concentrações de carbono pirogênico (Lehmann e Joseph, 2009) e baixo teor de nitrogênio, o que lhe confere uma elevada relação C/

N e baixa taxa de mineralização, aumentando seu período de permanência no sistema solo (Benites et al., 2009).

Os primeiros estudos sobre o uso biochar na agricultura se concentraram sobre a origem da alta fertilidade de solos antropogênicos na Amazônia, popularmente chamados de Terra Preta de Índio (Glaser et al., 2001). As pesquisas recentes mostraram que esses solos, apesar de sua origem distrófica, são férteis e produtivos sem fertilização devido às grandes quantidades de fragmentos finos de carvão resultante de adição casual ou proposital de índios pré-históricos (Lehmann et al., 2003). Estes solos são bastante atípicos (Morales, 2010), apresentando elevadas concentrações de C, N, P, K, Ca e matéria orgânica (Cunha et al., 2009).

Os primeiros estudos testando biochar em campo apresentaram aumentos significativos de produtividade em arroz de terras altas em Nova Xavantina, no leste de Mato Grosso (Petter et al., 2012). Outros estudos em Mato Grosso testando biochar em produção de mudas florestais (Souchie et al., 2011) e mudas de olerícolas (Lima et al., 2013; Marimon-Junior et al., 2012) apresentaram resultados variados.

Quando adicionado ao solo, o biochar aumenta significativamente a sua fertilidade (Glaser et al., 2002; Lehmann e Joseph, 2009), por melhorar a disponibilidade de nutrientes (Gaskin et al., 2010; Glaser et al., 2002) e aumentar a capacidade de troca catiônica (Glaser et al., 2002; Liang et al., 2006), aumentando ainda o pH e a retenção de água e nutrientes no solo, consequentemente diminuindo as perdas por lixiviação (Glaser et al., 2002; Lehmann, 2007; Lehmann e Joseph, 2009). Tais atributos tornam o biochar um potencial condicionante de solo ou substrato de mudas, podendo contribuir para a redução de adubos químicos e melhoria da qualidade das mudas.

O objetivo do presente trabalho foi testar a hipótese de que o biochar apresenta capacidade de condicionamento de substrato, suficiente até mesmo para melhorar as condições nutricionais de substratos comerciais, promovendo, consequentemente, melhor desenvolvimento de mudas de beterraba. Normalmente, substratos comerciais já são suficientes para prover as necessidades nutricionais básicas das plantas, contudo, é necessário testar alternativas para melhorar esta eficiência com baixo custo.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no viveiro da Universidade do Estado de Mato Grosso, município de Nova Xavantina (14° 41' 25" S; 52° 20' 55" W) entre novembro e dezembro de 2010. As mudas foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido de 200 células, utilizando a cultivar Tall Top Early Wonder. O desbaste foi realizado aos 10 dias após a semeadura (DAS), quando as plantas apresentaram o primeiro par de folhas definitivas, mantendo-se a planta mais vigorosa em cada célula. As bandejas foram dispostas sobre suportes de ferro a uma altura de 1,20m com telado sombreado a 50%, modelo capela. A irrigação foi realizada pelo sistema de microaspersão, com turno de rega e taxa de aplicação de acordo com as condições climáticas.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com seis tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados substratos comerciais puros e com diferentes doses de biochar, resultando nos seguintes tratamentos: GR (Germinar®), GR+B7,5 (Germinar® + biochar 7,5%), GR+B15 (Germinar® + biochar 15%), QB (Qualifibra®), QB+B7,5 (Qualifibra® + biochar 7,5%) e QB+B15 (Qualifibra® + biochar 15%). Os substratos comerciais utilizados foram analisados quanto as características químicas. Para o Germinar® foram obtidos os seguintes resultados: pH 5,7 em CaCl<sub>2</sub>; Ca 18,8 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg 5,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al 6,6 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC 32,3 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P 592,7 mg dm<sup>-3</sup>; K 740,0 mg dm<sup>-3</sup>; V% 79,7; MO 152,9 g dm<sup>-3</sup>. O substrato Qualifibra® apresentou: pH 5,7 em CaCl<sub>2</sub>; Ca 7,8 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg 3,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al 4,7 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC 17,1 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P 616,3 mg dm<sup>-3</sup>; K 570,0 mg dm<sup>-3</sup>; V% 72,9; MO 258,8 g dm<sup>-3</sup>.

O carvão vegetal foi produzido com madeira de diferentes espécies arbóreas em forno de alvenaria do tipo convencional, mantendo-se temperatura a ~200°C na fase inicial e ~500°C na fase final da carbonização, técnica conhecida como "rabo quente". O material foi moído em triturador de facas rotativas e peneirado em peneira de malha 1,0mm para separar a parte mais grosseira remanescente da moagem. O carvão moído foi testado quanto à granulometria em peneiras de solo padrão, apresentando mais de 62% do material com granulometria inferior a 0,5mm e aproximadamente 48% inferior a 0,1mm. A mistura do substrato com o

biochar foi realizada através de betoneira elétrica para perfeita homogeneização.

As avaliações foram realizadas aos 30 DAS, utilizando-se uma amostra de 12 plantas centrais por repetição e mantendo-se uma bordadura simples para evitar o efeito de borda. O número de folhas foi obtido por contagem manual, partindo-se das folhas basais até a última aberta. A altura das plantas foi determinada utilizando-se uma régua milimetrada posicionada do colo até o ápice da folha mais nova. O diâmetro das mudas foi tomado com paquímetro digital de precisão (0,01mm) Tesa Shop-Cal Digital Cal.

Para a avaliação da fitomassa, as mudas foram lavadas em água e seccionadas na base do colo para separação da parte aérea e do sistema radicular. As partes foram pesadas em balança analítica (precisão 0,0001g) para obtenção da massa fresca. Em seguida, foram acondicionadas em estufa de circulação forçada a 65°C até obtenção de peso constante. O material foi repesado em balança analítica para a determinação da massa seca da parte aérea e do sistema radicular. Para determinação da qualidade das mudas em cada tratamento foi utilizado o Índice de Qualidade de Dickson: IQD = massa seca total/(relação altura/diâmetro + relação biomassa seca aérea/radicular) (Dickson et al., 1960).

Para observar as diferenças entre os tratamentos efetuou-se a análise de variância (ANOVA) unifatorial, considerando os seus pressupostos, e posteriormente verificando-se a significância das variações pelo teste de Tukey a 5%.

## Resultados e Discussão

Conforme a Tabela 1 observa-se que houve diferenças entre os substratos para os parâmetros altura e diâmetro das mudas de beterraba aos 30 dias após a semeadura (DAS), onde o substrato Germinar® acrescido de 7,5% de biochar apresentou melhor desempenho, com altura semelhante ao substrato Germinar® e superior 0,81 cm que o substrato Qualifibra®. Quanto ao diâmetro, apresentou 0,07 mm e 0,11 a mais que Germinar® e Qualifibra®, respectivamente.

Corroborando com os resultados encontrados, alguns estudos também demonstram ganho em altura (Mendonça et al., 2003; Souchie et al., 2011; Zanetti et al., 2003) e diâmetro (Souchie et al., 2011) de plantas com a adição de biochar em substratos, o que pode

Tabela 1. Número de folhas (NF), Altura média (AM) e Diâmetro (DM) de mudas de beterraba cv. Tall Top Early Wonder, aos 30 DAS, em função de diferentes substratos

Tratamentos	NF (n° planta <sup>-1</sup> )	AM (cm)	DM (mm)
GR	1,92 a	4,01 ac	0,08 b
GR+B7,5	2,02 a	4,35 a	0,15 a
GR+B15	1,90 a	4,08 ac	0,06 b
QB	1,92 a	3,54 b	0,04 b
QB+B7,5	1,96 a	3,80 bc	0,05 b
QB+B15	1,94 a	3,48 b	0,07 b
CV (%)	5,14	10,92	50,89

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

estar relacionado à maior capacidade deste em reter água e nutrientes, promovendo melhor desempenho nutricional das plantas. Contudo, Alves (2006) e Zanetti et al. (2003) não verificaram melhor desenvolvimento de plantas de milho e limoeiro ‘Cravo’ com o uso de biochar, devendo-se atentar para as diferenças nas características do produto provocadas pelo material de origem e o tempo em que o mesmo é analisado, uma vez que a longa persistência e lenta reatividade do biochar no sistema solo faz com que seus benefícios sejam observados em longo tempo (e.g. Arruda e Teixeira, 2009; Major et al., 2010; Steiner et al., 2007).

Os resultados do presente estudo demonstram também que existe uma redução no desenvolvimento das mudas quando os substratos comerciais são acrescidos com a maior dose de biochar (15%), o que é observado em outros trabalhos que discutem que o excesso de biochar prejudica o desenvolvimento das culturas (Glaser

et al., 2002; Zanetti et al., 2003). Em substratos esse efeito pode ser resultado da redução do volume de solo ou substrato alternativo conforme aumenta o volume de biochar, o que diminui a quantidade de nutrientes disponíveis, uma vez que o biochar atua na retenção e não na disponibilização de nutrientes.

Contrariando esses resultados, Souchie et al. (2011) discutem que a maior dose de biochar utilizada em mudas da árvore nativa carvoeiro (*Tachigali vulgaris*) foi eficiente para o desenvolvimento das mudas. Os autores observaram incrementos significativamente maiores em altura, diâmetro e biomassa aérea e radicular nos tratamentos com as maiores doses de biochar ao longo de oito meses, confirmando a eficácia do produto em médio prazo na produção de mudas.

Com isso, verifica-se a necessidade de obter informações de doses ideais para cada tipo de cultura e produção (Glaser et al., 2002; Zanetti et al., 2003), além de informações sobre os diferentes materiais dos quais o produto pode ser obtido, uma vez que causam variações nas suas funções físico-químicas no solo, afetando sobremaneira as características do produto final (Gaskin et al., 2010; Lehmann, 2007) e os resultados no desenvolvimento das culturas.

Para a biomassa, foram observadas diferenças apenas na parte aérea, onde os substratos Germinar<sup>®</sup> com 7,5% e Germinar<sup>®</sup>, mostraram-se mais eficientes para a massa fresca e seca, respectivamente (Tabela 2). Outros trabalhos também discutem o benefício do biochar no incremento da biomassa em diferentes culturas (e.g. Lehmann et al., 2003; Rondon et al., 2007; Souchie et al., 2011). Como uma boa formação da parte aérea é de extrema importância em situações de limitação de

espaço ao crescimento de raízes de mudas, como em tubetes ou bandejas, devido ao pequeno volume de substrato nestes recipientes (Oliveira et al., 2008), o acréscimo do biochar nos substratos comerciais pode ser uma alternativa eficiente para o desenvolvimento vegetal em tais condições.

Foram verificadas diferenças entre os tratamentos para o Índice de Qualidade de Dickson (IQD) (p=0,001), com o substrato Germinar<sup>®</sup> com 7,5% de biochar apresentando desempenho superior ao substrato Qualifibra<sup>®</sup> (Figura 1),

Tabela 2. Massa fresca e seca da parte aérea (MFPA e MSPA), massa fresca e seca da raiz (MFR e MSR) de mudas de beterraba cv. Tall Top Early Wonder, aos 30 DAS, em função de diferentes substratos

Tratamentos	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	MSR (g)
GR	0,10980 a	0,00983 a	0,11275 a	0,01113 a
GR+B7,5	0,10985 a	0,00888 ab	0,07030 a	0,00883 a
GR+B15	0,08668 ab	0,00813 ab	0,06315 a	0,00658 a
QB	0,06763 ab	0,00715 ab	0,06425 a	0,00800 a
QB+B7,5	0,06703 ab	0,00603 b	0,06185 a	0,00785 a
QB+B15	0,05365 b	0,00613 b	0,04795 a	0,00648 a
CV (%)	28,01	19,92	54,08	34,66

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

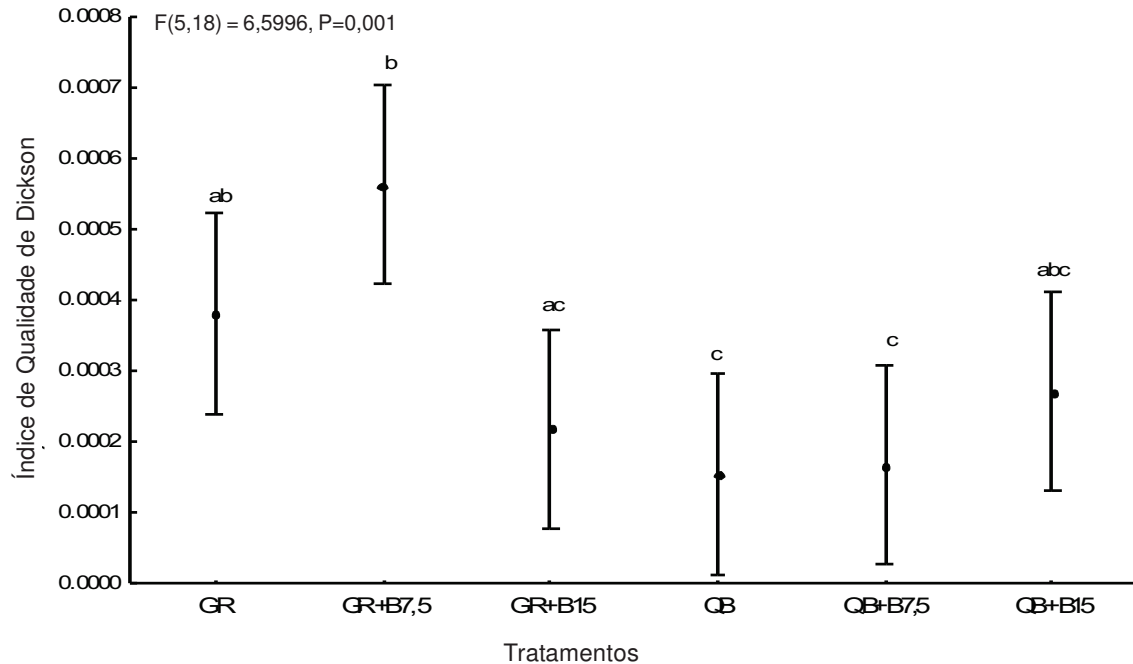


Figura 1. Resultados de Índice de Qualidade de Dickson de mudas de beterraba, cv. Tall Top Early Wonder, aos 30 DAS, em função de diferentes substratos. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

comprovando a eficácia do produto na qualidade final das mudas.

Em trabalho com mudas de berinjela, Lima et al. (2013) observaram que substratos com doses de biochar adicionadas em Latossolo mostraram resultados de IQD semelhantes aos do presente estudo para o substrato comercial Germinar®. Como este parâmetro de desempenho vegetativo é o mais importante para a avaliação da qualidade das mudas (Costa et al., 2011), a hipótese de que o biochar contribui para o desenvolvimento vegetal quando adicionado a substratos comerciais pode ser confirmada.

Verificou-se também, no presente trabalho, diferenças em relação aos dois tipos de substratos comerciais utilizados, independentemente da adição de biochar, fato que pode estar relacionado às diferentes composições de material nesses produtos, conforme foi discutido por Ferraz et al. (2005).

### Conclusões

A adição de 7,5% de biochar ao substrato Germinar® mostrou-se eficiente para a produção de mudas de

beterraba. A hipótese de que biochar pode condicionar até mesmo substratos comerciais balanceados se confirmou para mudas de beterraba em bandejas plásticas, comprovando a eficácia do produto.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro ao Projeto Biochar (CT-AGRO 575019/2008), coordenado por Ben Hur Marimon Junior.

### Literatura Citada

- ALVES, M. 2006. Impactos da utilização de fino de carvão e extrato pirolenhoso na agricultura. Dissertação Mestrado. Jaboticabal, SP, UNESP. 52p.
- ARRUDA, M. R. de; TEIXEIRA, W. G. 2009. Utilização de resíduos de carvão vegetal associado a fontes orgânicas de nutrientes no manejo sustentável do solo e do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) na Amazônia Central. In: Teixeira, W. G. et al. As Terras Pretas de índio da Amazônia: sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas áreas. Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental. pp. 306-313.



- BENITES, V. de M. et al. 2009. Utilização de carvão e subprodutos da carbonização vegetal na agricultura: aprendendo com as Terras Pretas de Índio. In: Teixeira, W. G. et al. As Terras Pretas de Índio da Amazônia: sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas áreas. Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental pp.285-296.
- BEZERRA, F. C. 2003. Produção de mudas de hortaliças em ambiente protegido. Fortaleza, CE, Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos nº 72.
- COSTA, E. et al. 2011. Qualidade de mudas de berinjela submetida a diferentes métodos de produção. Revista Ciência Agronômica (Brasil) 42:1017-1025.
- CUNHA, T. J. F. et al. 2009. Soil organic matter and fertility of anthropogenic dark earths (Terra Preta de Índio) in the Brazilian Amazon basin. Revista Brasileira de Ciência do Solo 33(1):85-93.
- DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. Forest Chronicle 36:10-13.
- ECHER, M. de M. et al. 2007. Avaliação de mudas de beterraba em função do substrato e do tipo de bandeja. Semina: Ciências Agrárias (Brasil) 28(1):45-50.
- FERRAZ, M. V.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N. 2005. Caracterização física e química de alguns substratos comerciais. Acta Scientiarum Agronomy 27(2):209 - 214.
- FURLANI, P. R.; PURQUERIO, L. F. V. 2010. Avanços e desafios na nutrição de hortaliças. In: Prado, R. M. et al. Nutrição de plantas: diagnose foliar em hortaliças. Jaboticabal, SP, FCAV/FAPESP/CAPES/FundUnesp. pp.45-62.
- GASKIN, J. W. et al. 2010. Effect of peanut hull and pine chip biochar on soil nutrients, corn nutrient status, and yield. Agronomy Journal 102:623-633.
- GLASER, B. et al. 2001. The 'Terra Preta' phenomenon: a model for sustainable agriculture in the humid tropics. Naturwissenschaften 88(1):37-41.
- GLASER, B.; LEHMANN, J.; ZECH, W. 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal - a review. Biology and Fertility of Soils 35:219-230.
- GOMES, L. A. A. et al. 2008. Produção de mudas de alface em substrato alternativo com adubação. Horticultura Brasileira 26(3):359-363.
- GRANGEIRO, L. C. et al. 2007. Acúmulo e exportação de nutrientes em beterraba. Ciência e Agrotecnologia (Brasil) 31 (2):267-273.
- LEHMANN, J. 2007. Bioenergy in the black. Frontiers in Ecology and the Environment 5(7):381-387.
- LEHMANN, J.; JOSEPH, S. 2009. Biochar for environmental management: an introduction. In: Lehmann, J.; Joseph, S. Biochar for environmental management: science and technology. London, Earthscan. pp.01-09.
- LEHMANN, J. et al. 2003. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. Plant and Soil 249:343-357.
- LIANG, B. et al. 2006. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. Soil Science Society of America Journal 70:1719-1730.
- LIMA, S. L. et al. 2013. Biochar as substitute for organic matter in the composition of substrates for seedlings. Acta Scientiarum Agronomy 35:333-341.
- MAJOR, J. et al. 2010. Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. Plant Soil 333:117-128.
- MARIMON-JUNIOR, B. H. et al. 2012. Produção de mudas de jiló em substrato condicionado com Biochar. Comunicata Scientiae 3(2):108-114.
- MARQUES, L. F. et al. 2010. Produção e qualidade da beterraba em função da adubação com esterco bovino. Revista Brasileira de Agroecologia (Brasil) 5(1):24-31.
- MEDEIROS, D. C. et al. 2008. Qualidade de mudas de alface em função de substratos com e sem biofertilizante. Horticultura Brasileira 26(2):186-189.
- MENDONÇA, V. et al. 2003. Diferentes substratos e recipientes na formação de mudas de mamoeiro 'Sunrise Solo'. Revista Brasileira de Fruticultura 25(1):127-130.
- MORALES, M. M. 2010. Efeito do biocarvão sobre o comportamento da matéria orgânica e do fósforo em solo degradado. Tese Doutorado. Botucatu, SP, UNESP. 75p.
- OLIVEIRA, D. A. et al. 2008. Produção de mudas de pimentão e alface em diferentes combinações de substrato. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável (Brasil) 3(1):133-137.
- PETTER, F. A. et al. 2012. Soil fertility and agronomic response of rice to biochar application in the Brazilian savannah. Pesquisa Agropecuária Brasileira 47(5):699-706.
- RONDON, M. A. et al. 2007. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with biochar additions. Biology and Fertility of Soils 43:699-708.
- SOUCHIE, F. F. et al. 2011. Carvão pirogênico como condicionante para substrato de mudas de *Tachigali vulgaris*. Ciência Florestal (Brasil) 21(4):811-821.
- STEINER, C. et al. 2007. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. Plant Soil 291:275-290.
- ZANETTI, M. et al. 2003. Uso de subprodutos de carvão vegetal na formação do porta-enxerto limoeiro 'Cravo' em ambiente protegido. Revista Brasileira de Fruticultura 25 (3):508-512. ●



## USO DE EXTRATOS VEGETAIS NA PROTEÇÃO DE PLANTAS DE INHAME CONTRA *Curvularia eragrostidis* E *Phyllosticta* sp.

**Darcilúcia Oliveira do Carmo de Almeida, Jorge Teodoro de Souza, Ricardo Franco Cunha  
Moreira**

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, CCAAB, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.  
darciluciac@yahoo.com.br

Objetivou-se avaliar a atividade fungitóxica, *in vitro*, em casa de vegetação e no campo, de manipueira e de extratos vegetais de folhas de juá (*Ziziphus joazeiro*), folhas de velame (*Croton triqueter*) e sementes de nim (*Azadirachta indica*) contra *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. em plantas de inhame. Nos experimentos *in vitro* e em casa de vegetação foram avaliadas as concentrações de 5, 15, 25, 35 e 45% dos extratos aquosos. A campo, avaliou-se a melhor concentração dos extratos em duas áreas experimentais. Nas análises *in vitro*, a manipueira e o extrato de folhas de juá mesmo em baixas concentrações inibiram o crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. A incidência da doença variou de 20 a 100% para *C. eragrostidis* e 30 a 100% para *Phyllosticta* sp. em casa de vegetação. A campo, as menores médias de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e as maiores médias de área foliar foram obtidas nos tratamentos com manipueira e extrato de folhas de juá. Todos os extratos promoveram aumento do comprimento, diâmetro e peso dos rizóforos de inhame, destacando-se entre eles, a manipueira e o extrato de folhas de juá.

**Palavras-chave:** Promoção de crescimento, produto natural, controle alternativo e *Dioscorea* spp

**The use of plant extracts to protect yam against *Curvularia eragrostidis* and *Phyllosticta* sp.** This study aimed at evaluating the fungitoxic activity of plant extracts *in vitro*, in the greenhouse and in the field against *Curvularia eragrostidis* and *Phyllosticta* sp. in yam plants. Cassava wastewater and leaf extracts of jua (*Ziziphus joazeiro*), croton (*Croton triqueter*) and neem seed extract (*Azadirachta indica*) were tested *in vitro* and in the greenhouse at 5, 15, 25, 35 and 45%. The concentration with the best activity against the fungi was tested in two experimental areas. *In vitro* assays showed that cassava wastewater and jua extract inhibited mycelial growth, sporulation and conidial germination of *C. eragrostidis* and *Phyllosticta* sp., even at low concentrations. Disease incidence ranged from 20 to 100% for *C. eragrostidis* and from 30 to 100% for *Phyllosticta* sp. in the greenhouse. The lowest average of area under the disease progress curve (AACPD) and the highest average leaf area were in treatments with cassava wastewater and jua extract. All extracts caused an increase in the length, diameter and weight of yam rhizophores, for most among them, cassava wastewater and jua extract.

**Key words:** Growth promotion, natural product, alternative control and *Dioscorea* spp.

## Introdução

O inhame (*Dioscorea rotundata*) é uma tuberosa de alto valor energético e nutricional, que desempenha importante papel sócio-econômico na região Nordeste (Santos et al., 2007a). É nesta região que se concentram aproximadamente 90% de toda a produção brasileira, com destaque para os Estados de Alagoas, Bahia, Maranhão, Paraíba e Pernambuco (Garrido, 2005). Contudo, a falta de tecnologia e informações técnicas, o uso de sementes de baixa qualidade, a baixa fertilidade natural dos solos e a ocorrência de doenças foliares são os principais problemas enfrentados pelos produtores (Mesquita, 2002; Santos, 2002; Garrido et al., 2003; Garrido, 2005).

Dentre as doenças fúngicas que afetam a cultura do inhame, merece destaque a queima das folhas causada pelo fungo *Curvularia eragrostidis*. O patógeno, em condições favoráveis de temperatura e umidade, provoca manchas circulares e necróticas nas folhas e nas hastes da planta (Santos, 1998). A doença é responsável por grandes prejuízos na produção, em decorrência da sua alta capacidade de disseminação e redução da área fotossintética das plantas, ocasionando perdas de aproximadamente 40% no peso dos rizóforos comerciais (Garrido et al., 2003; Garrido, 2005). *Phyllosticta* sp., foi constatado em cultivos de inhame no Recôncavo da Bahia, não tendo sido relatado em outras regiões produtoras do Brasil (Perez et al., 2004). Observou-se uma baixa severidade da mancha foliar causada por esse patógeno, sugerindo que o mesmo possa ter importância secundária para a cultura do inhame. *Phyllosticta* sp. é bastante sensível a variações climáticas (Van Der Aa, 1973) e pouco se sabe sobre o seu comportamento nos plantios de inhame no Brasil.

Não existem defensivos registrados para a cultura do inhame no Ministério da Agricultura. O controle da queima das folhas no campo vem sendo realizado com a utilização de fungicidas registrados para o controle de doenças foliares em outras olerícolas, como os pertencentes aos grupos dos ditiocarbamatos, triazóis e benzimidazóis (Santos et al., 2007b). Por ser uma cultura explorada principalmente por pequenos produtores, a necessidade de controlar a queima foliar sem depender da aplicação de fungicidas ou com quantidades mínimas destes compostos é evidente. A utilização de métodos alternativos de controle de

doenças de plantas representa um grande desafio para a agricultura moderna.

Existem poucas informações sobre o controle da queima das folhas do inhame em condição de campo. Trabalhos vêm sendo realizados no controle *in vitro* de *C. eragrostidis*, com resultados promissores (Carvalho et al., 2002; Soares et al., 2006; Soares et al., 2008), porém, relatos do uso de extratos vegetais em campo são raros, o que justifica a realização desta pesquisa.

Com base no exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade fungitóxica *in vitro*, em casa de vegetação e no campo, de manipueira, extratos vegetais de folhas de juá (*Ziziphus joazeiro*), folhas de velame (*Croton triqueter*) e sementes de nim (*Azadirachta indica*) contra *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. na cultura do inhame.

## Material e Métodos

### Isolados de fungos utilizados

Os isolados de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. utilizados neste estudo foram obtidos a partir de folhas de inhame com sintomas típicos de queima coletadas de áreas de produção do Recôncavo Baiano. Foram utilizados um isolado de *C. eragrostidis* e um de *Phyllosticta* sp., de uma área de produção conhecida como Batatan, localizada no município de Maragogipe, Bahia.

### Extratos vegetais

Foram utilizados no preparo dos extratos aquosos 100 g de cada material vegetal: folhas de juá, folhas de velame e sementes de nim. Os materiais vegetais foram triturados em liquidificador contendo 250 mL de água destilada esterilizada (ADE), formando a solução considerada 100%. A manipueira é um subproduto da produção de farinha de mandioca (*Manihot esculenta*) e foi usada com até 24 horas de colhida. Os outros extratos foram preparados no momento da aplicação. Para fins de comparação, o fungicida chlorothalonil foi aplicado na dosagem de 100g/100L. Nas plantas testemunhas pulverizou-se apenas água.

### Ensaios *in vitro*

A fungitoxicidade dos extratos vegetais foi avaliada

determinando-se a percentagem de inibição do crescimento micelial de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. em placas de Petri contendo o meio BDA 20% (Batata- 40g; Dextrose- 4g; Ágar - 17g). Discos esterilizados de papel 5 mm foram imersos em manipueira e em extratos de folhas de juá, extratos de folhas de velame e de sementes de nim, nas concentrações de 5, 15, 25, 35 e 45%.

Um disco de micélio de cada fungo (5mm), obtidos de cultura pura de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. equidistantes 2 cm do disco de papel esterilizado contendo cada concentração de extrato. Para a testemunha foram utilizadas apenas placas de Petri contendo BDA 20%. As placas contendo os tratamentos foram mantidas à 25 °C com fotoperíodo de 12 horas por 10 dias. As avaliações foram realizadas a cada 24h, através da medição do diâmetro das colônias.

Avaliou-se a produção de conídios após 10 dias de incubação. Para o preparo da suspensão de conídios, foram adicionados 20mL de ADE nas placas contendo cada tratamento individualmente, para facilitar a remoção do micélio com uma escova de cerdas macias. O material foi filtrado em duas camadas de gaze esterilizada, e a concentração de conídios determinada em hemacitômetro, com microscópio óptico, obtendo-se uma média de cinco leituras para cada um dos tratamentos.

Para avaliação do efeito dos extratos vegetais sobre a germinação de conídios foram adicionados às placas de Petri, contendo meio de cultura BDA 20%, 0,1mL de uma suspensão de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. ( $10^6$  conídios/mL), acrescidas de 0,1mL de manipueira, extratos de juá, velame e nim nas concentrações de 5, 15, 25, 35, 45%. A suspensão foi espalhada sobre o meio de cultura com alça de Drigalski. As placas foram incubadas em distribuição casualizada dos tratamentos em escuro contínuo a temperatura ambiente. Para avaliação ao microscópio as placas foram divididas em quatro quadrantes por marcas na sua parte externa, onde foram realizadas leituras após 48h de incubação. O mesmo procedimento foi realizado para a testemunha. Cada repetição foi representada por um quadrante.

A avaliação do efeito dos extratos sobre a germinação dos conídios dos dois fungos foi realizada através da contagem de conídios germinados por quadrante e comparados com os conídios germinados

na testemunha. Foram considerados germinados os conídios que apresentavam tubo germinativo pelo menos 2x maior que o diâmetro do esporo. Para a análise do crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios das duas espécies de fungos, determinaram-se a percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), a percentagem de inibição da esporulação (PIE) e a percentagem de germinação de conídios (PIG), para cada extrato em relação ao tratamento testemunha, por meio das fórmulas apresentadas a seguir:

$$PIC = \frac{(\text{Diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}) \times 100}{\text{Diâmetro da testemunha}}$$

$$PIE = \frac{(\text{Esporulação da testem.} - \text{esporulação do tratam.}) \times 100}{\text{Esporulação da testemunha}}$$

$$PIG = \frac{(\text{Germinação da testem.} - \text{germinação do tratam.}) \times 100}{\text{Germinação da testemunha}}$$

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 x 5 + 1) quatro extratos vegetais, testados em cinco concentrações + testemunha (ADE), totalizando 20 tratamentos, com cinco repetições para o PIC e PIE e para o PIG quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de regressão e de variância pelo teste F, comparando-se as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Sisvar.

### Ensaio em casa de vegetação

Foram utilizados rizóforos-sementes de uma área de produção do Batatan, município de Maragogipe, Bahia. Plantas sadias de inhame (*Dioscorea rotundata*) de aproximadamente 120 dias de idade, cultivadas em vasos em casa de vegetação, foram pulverizadas com 10 mL de manipueira, extratos de folhas de juá, extratos de folhas de velame e sementes de nim, nas concentrações de 5, 15, 25, 35 e 45%. Plantas pulverizadas com água foram usadas como testemunha. A pulverização foi efetuada com auxílio de borrifador manual e as plantas de inhame foram mantidas em câmara úmida por 48h, em casa de vegetação a temperatura ambiente. Após este período, suspensões de conídios dos dois fungos foram inoculados na concentração de  $10^6$  conídios/mL. Adicionou-se 0,1% de Tween 20 à suspensão. As plantas de inhame foram

novamente mantidas em câmara úmida por 48 h. Após este período, a percentagem de incidência da queima foliar foi avaliada aos vinte dias após a inoculação. Folhas pulverizadas com solução de água e Tween 20 a 0,1 % foram mantidas como testemunha. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com dez repetições, onde cada par de folíolos pulverizado e inoculado constituiu uma repetição. Utilizou-se um total de 50 plantas, sendo duas plantas de inhame para cada concentração de extrato vegetal. Para avaliação da incidência da doença, para cada tratamento, foram contados os pares de folíolos sintomáticos, observando-se a presença de queima. Os dados foram transformados para percentagem de folíolos com sintomas.

### Ensaio no campo

O solo foi preparado por meio de aração, duas gradagens e confecção de leirões de aproximadamente 50 cm de altura com trator e enxada. As parcelas foram compostas por três leirões, medindo 2,4 m de comprimento cada um, distanciados 1,2 m entre si e 1 m entre parcelas perfazendo uma área de 8,64 m<sup>2</sup>, com 27 plantas úteis. No plantio, empregou-se rizóforos-sementes com massa média de 150 g. Foram realizados dois experimentos utilizando rizóforos-sementes de duas áreas de produção do Recôncavo Baiano: Batatan e São Felipe, respectivamente. Utilizou-se esterco curtido de gado e adubação conforme análise do solo (Tabela 1). No plantio foram utilizadas a parte apical e mediana dos rizóforos, descartando a parte distal devido a menor percentagem de germinação que estas apresentam.

A melhor concentração dos produtos *in vitro* e casa de vegetação foi utilizada no campo. O ensaio foi realizado com aplicação de manipueira, extratos de folhas de juá, folhas de velame, sementes de nim, na proporção de 25%, acrescidos de óleo mineral na proporção 5mL/100L de água e para a testemunha

apenas água e o fungicida chlorothalonil, sem adição de óleo mineral.

As aplicações foram realizadas aos 105 dias após o plantio quando foram observados os primeiros sintomas da doença. Foram realizadas três pulverizações das plantas em intervalo de 20 dias com o uso de pulverizador costal com capacidade de cinco litros. Para a análise da doença utilizou-se escala diagramática estabelecida para *C. eragrostidis* (Michereff et al., 2000), com severidade variando de 0 a 32%. A severidade de manchas foliares do inhame foi estimada em todos os tratamentos a intervalos de 15 dias após as aplicações. A partir dos dados de severidade, calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), baseado na fórmula:  $AACPD = \sum (y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)$ , onde: n = número de avaliações; y = severidade (%); t = tempo (dias). Os valores de AACPD foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A porcentagem de área foliar lesionada por *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. foi estimada aos 180 dias após o plantio, em cinco plantas por parcela experimental. Em cada planta foi avaliado um total de nove folhas sendo três de cada um dos terços inferior, mediano e superior. As folhas foram escaneadas individualmente respeitando-se a posição e os tratamentos. Para esta análise utilizou-se o programa Quant (Vale et al., 2001). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Foi realizada a colheita aos nove meses após o plantio, quando os rizóforos atingiram sua completa maturação fisiológica. Essa fase foi indicada pela presença de folhas e ramos senescentes. Determinou-se o peso médio de rizóforos de inhame de cada tratamento bem como o diâmetro e o comprimento. Para análise de produção, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados

### Atividade fungitóxica *in vitro*

As percentagens de inibição do crescimento micelial

Tabela 1. Características químicas do solo da área Experimental I e II, coletado na profundidade de 0-20 cm

Medida		Unidade	Valores obtidos
pH em água		xxx	4,9
Fósforo	P-	mg/dm <sup>3</sup>	20,0
micronutrientes	K+	mg/dm <sup>3</sup>	0,18
Matéria orgânica		g/kg	8,49

(PIC), inibição da esporulação (PIE) e germinação de conídios (PIG) de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. utilizando-se extratos vegetais indicam que dentre os quatro extratos vegetais utilizados, a manipueira e o juá destacaram-se já na concentração de 5% (Figura 1). As inibições aumentaram para valores próximos a 100% em concentrações acima de 25% para todos os extratos, com exceção do extrato de sementes de nim, que não inibiu o crescimento micelial.

#### **Controle da queima das folhas em casa de vegetação**

Houve redução da incidência dos dois patógenos para as diferentes concentrações dos extratos testados, quando comparados com a testemunha, pulverizada com água. A incidência da doença variou de 20 a 100% para *C. eragrostidis* e 30 a 100% para *Phyllosticta* sp. (Figura 2). Após 24 horas da pulverização, as concentrações de 35% e 45% de manipueira causaram a murcha de todas as folhas das plantas de inhame cultivadas em casa de vegetação.

#### **Controle da queima das folhas no campo**

Foram observados os primeiros sintomas de manchas foliares ocasionadas por *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. aos 105 dias após o plantio (DAP), quando se iniciaram as aplicações dos extratos a 25%. Ficou evidenciado que houve influência dos extratos das plantas sobre a área abaixo da curva de progresso da doença para queima das folhas do inhame causada por *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. nas duas áreas experimentais (Tabela 2). Na área experimental I, o extrato de nim foi o único que não diferiu da testemunha, enquanto na área II, todos os tratamentos diferiram do controle. A parte inferior das plantas foi a mais afetada, em todos os tratamentos.

As menores médias da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foram obtidas para os tratamentos com manipueira 25% e folhas de juá 25%. Resultados semelhantes foram obtidos para queima das folhas causada por *Phyllosticta* sp. O extrato inferior das plantas foi o mais afetado, em todos os tratamentos. Os extratos vegetais na concentração de 25% reduziram a AACPD em níveis semelhantes aos observados para o fungicida chlorothalonil.

Houve influência dos tratamentos sobre a área foliar de inhame naturalmente infectado por *C. eragrostidis*

e *Phyllosticta* sp. aos 180 dias após o plantio nas duas áreas experimentais. A aplicação dos extratos vegetais para o controle de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. proporcionou as maiores médias de área foliar nos tratamentos com manipueira e extrato de folhas de juá ( $p>0,05$ ), seguidos de extrato de velame, que não foi significativamente diferente do fungicida chlorothalonil e finalmente o tratamento com extrato de sementes de nim, que foi igual a testemunha não tratada (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados para a área experimental II.

Houve influência dos extratos vegetais utilizados apenas sobre o comprimento e o peso dos rizóforos colhidos, mas não para o diâmetro. Para a variável comprimento de rizóforos, os tratamentos com manipueira, extrato de juá, extrato de velame e o fungicida chlorothalonil não diferiram significamente entre si, mas foram maiores que a testemunha e tratamentos com extrato de sementes de nim (Tabela 4). Tratamentos com manipueira e extrato de juá proporcionaram os maiores valores de peso de rizóforos, seguidos dos outros tratamentos (Tabela 4).

### **Discussão**

A queima das folhas é uma doença limitante para a cultura do inhame e o controle com métodos alternativos é desejável. Nesse trabalho, estudamos a possibilidade de se controlar a queima das folhas causada por *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. com extratos vegetais. A manipueira e o extrato de folhas de juá proporcionaram os melhores resultados.

Os efeitos promovidos pelos extratos sobre a doença podem estar relacionados à sua atividade antimicrobiana direta sobre o patógeno. Esta ação dos extratos também já foi observada em outros trabalhos utilizando plantas medicinais (Balbi-Peña, 2005; Bonaldo et al., 2004; Franzner et al., 2003). Estes efeitos promovidos pelos extratos vegetais sobre o controle de fungos de interesse agrônômico, também tem sido reportado em outros trabalhos em condições *in vitro* ou em casa de vegetação (Nascimento et al., 2008; Nery, 2006; Passos, 2006;). Poucos trabalhos na literatura observaram as atividades dos princípios ativos de plantas em condições de campo (Rodrigues et al., 2007; Rodrigues, 2004; Kuhn et al., 2006).



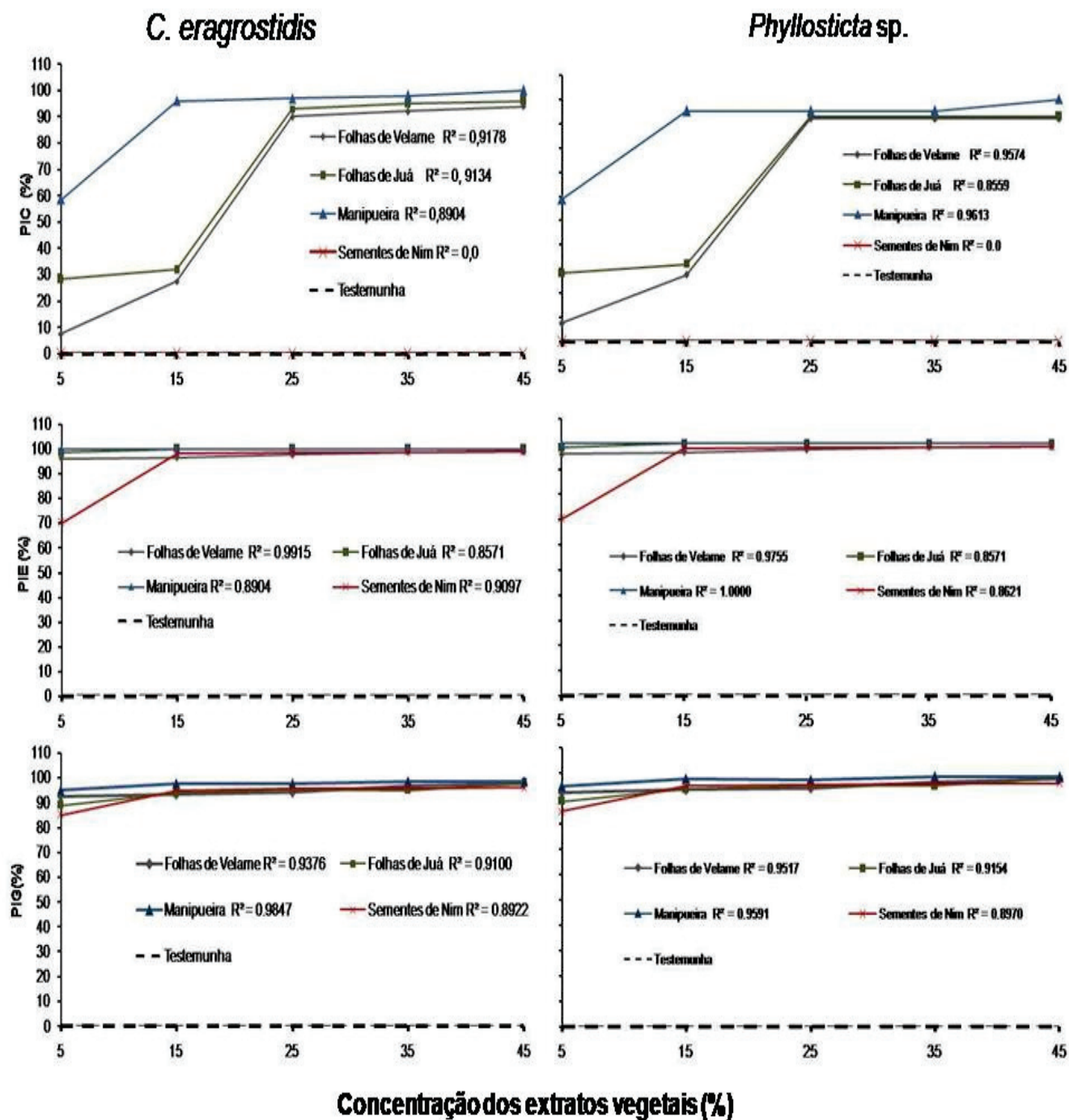


Figura 1. Percentagem de inibição do crescimento micelial, da esporulação e da germinação de conídios de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. com o uso de extratos vegetais após dez dias de incubação. PIC = inibição do crescimento micelial, PIE = inibição da esporulação e PIG = inibição da germinação de conídios.

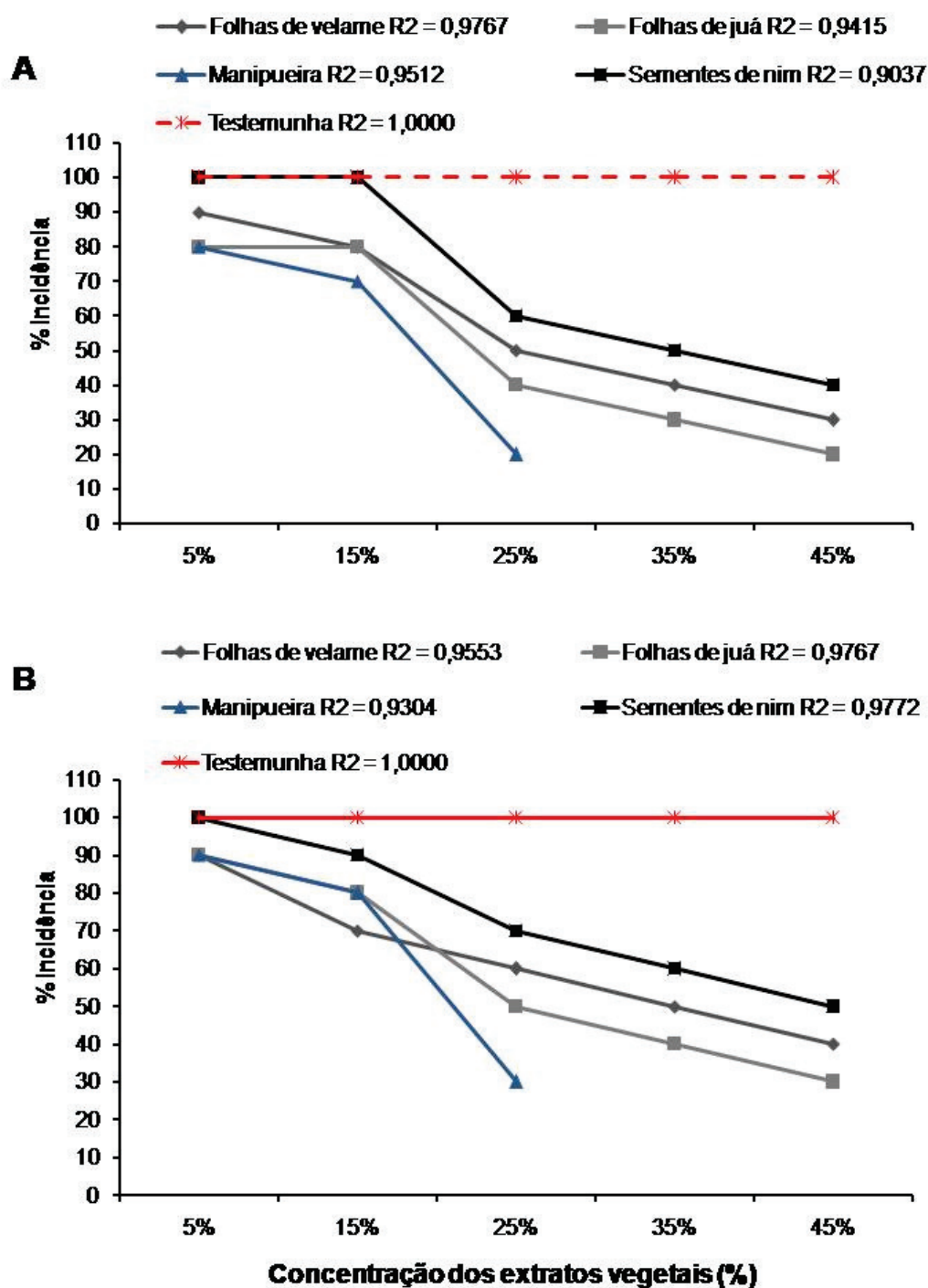


Figura 2. Incidência de *Curvularia eragrostidis* (A) e *Phyllosticta sp.* (B) em mudas de inhame (*D. rotundata*) tratadas com diferentes concentrações de extratos vegetais. As concentrações 35% e 45% de manipueira causaram murcha das plantas, impedindo sua avaliação.

Tabela 2. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas pulverizadas com extratos vegetais contra *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp.

Área experimental	Tratamentos	<i>C. eragrostidis</i>	<i>Phyllosticta</i> sp.
I	Testemunha	238,77 a	228,77 a
	Folhas de velame 25%	196,00 b	186,00 b
	Folhas de juá 25%	180,37 c	170,37 c
	Manipueira 25%	157,70 d	147,70 d
	Sementes de nim 25%	236,73 a	223,73 a
	Chlorothalonil	194,07 b	184,07 b
II	Testemunha	269,40 a	259,40 a
	Folhas de velame 25%	232,10 c	222,10 c
	Folhas de juá 25%	189,33 d	179,33 d
	Manipueira 25%	175,67 e	165,67 e
	Sementes de nim 25%	253,73 b	243,73 b
	Chlorothalonil	236,27 c	226,27 c

\*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias das AACPD foram calculadas com dados registrados nos três estratos das plantas de inhame em campo: superior, mediano e inferior. A testemunha foi pulverizada com somente água. As avaliações de severidade das manchas foliares causadas pelos dois patógenos foram feitas a cada 15 dias após a aplicação dos tratamentos (105 dias) até 180 dias após o plantio.

Tabela 3. Área foliar da cultura do inhame aos 180 dias após pulverização com extratos vegetais contra *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp.

Área experimental	Tratamentos	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	
		<i>C. eragrostidis</i>	<i>Phyllosticta</i> sp.
I	Testemunha	46,61 c	53,27 c
	Folhas de velame 25%	109,17 b	108,5 b
	Folhas de juá 25%	121,17 a	121,51 a
	Manipueira 25%	134,17 a	133,52 a
	Sementes de nim 25%	62,14 c	60,14 c
	Chlorothalonil	103,81 b	108,50 b
II	Testemunha	64,27 c	63,27 c
	Folhas de velame 25%	114,81 b	113,81 b
	Folhas de juá 25%	132,17 a	131,52 a
	Manipueira 25%	144,17 a	143,50 a
	Sementes de nim 25%	71,81 c	70,14 c
	Chlorothalonil	103,17 b	104,71 b

\*Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias das áreas foliares em três estratos das plantas de inhame: superior, mediano e inferior. A testemunha foi pulverizada com somente água. As avaliações de área foliar das plantas foram feitas aos 180 dias após o plantio.

Uma outra possível forma de atuação dos extratos é a indução de resistência (Franzner et al., 2003). No entanto, nesse trabalho esse efeito não foi avaliado.

O chlorothalonil (Bravonil Ultrex) é um fungicida protetor recomendado para controle de doenças fúngicas, como por exemplo, antracnose causada por *Elsinoe ampelina*, pinta preta causada por *Alternaria solani* em tomate e oídio, causado por *Uncinula necator*. Apresenta baixa eficiência em mangueira e videira contra *Lasioidiplodia theobromae* (Rodrigues, 2004; Tavares et al., 1994) e míldio (*Pseudoperonospora cubensis*) do meloeiro (Cardoso et al., 2001). No entanto, não existe recomendação do fungicida chlorothalonil para a cultura do inhame.

O potencial do nim (*Azadirachta indica*) em controlar doenças no campo, mesmo quando aplicado em baixas concentrações foi evidenciada em diversos trabalhos. Observou-se efeitos significativos de extratos de nim sobre *F. oxysporum* (Candido e Silva et al., 2007), *Colletotrichum* spp., (Miguel et al., 2006), no controle do oídio (*Oidium lycopersici*) (Carneiro, 2003), mancha de *Alternaria*, tombamento (*Ralstonia solani*), *Fusarium*, *S. rolfsii* (Penteado, 2001; Abreu Júnior, 1998) e antracnose (Amadioha e Obi, 1998). No presente trabalho, o crescimento micelial de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. não foi inibido pelo tratamento com extrato de sementes de nim. Contudo, houve uma diferença na coloração das colônias tratadas com extrato de sementes de nim. Essas apresentaram uma coloração mais clara que as testemunhas. A exposição de óleo de nim a altas temperaturas e a radiação solar promove a degradação dos compostos ativos (Martinez et al., 2002), indicando que essa pode ter sido uma das razões para esse tratamento não ter mostrado efeito no campo.

A manipueira vem sendo testada no controle de fitopatógenos e apresenta comprovada ação nematicida (Franco, 1986; Franco et al., 1990), inseticida e fungicida (Ponte, 2000). Segundo Lorenzi e Dias

Tabela 4. Produção de inhame tratado com diferentes extratos vegetais contra queima das folhas em duas áreas experimentais

Área experimental	Tratamentos	Rizóforos		
		Comprimento (cm)	Diâmetro (mm)	Peso (Kg)
I	Testemunha	12,07 b	6,2 a	0,95 b
	Folhas de velame 25%	14,51 a	6,3 a	1,36 b
	Folhas de juá 25%	15,74 a	6,4 a	2,03 a
	Manipueira 25%	17,70 a	6,6 a	2,27 a
	Sementes de nim 25%	12,67 b	6,3 a	1,32 b
	Chlorothalonil	16,73 a	6,3 a	1,37 b
II	Testemunha	11,06 b	5,1 a	0,85 b
	Folhas de velame 25%	13,52 a	5,2 a	1,26 b
	Folhas de juá 25%	14,64 a	5,4 a	2,13 a
	Manipueira 25%	16,50 a	5,6 a	2,37 a
	Sementes de nim 25%	11,57 b	5,2 a	1,42 b
	Chlorothalonil	15,63 a	5,2 a	1,47 b

\*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

(1993), a manipueira apresenta ácido cianídrico (HCN) em sua composição. Acredita-se que a atividade fungicida seja causada pela presença de dois glicosídeos cianogênicos, como a linamarina, que participa em maior proporção (92-98%), a lotaustralina metil, derivada da linamarina (2-8%), e pela presença da enzima linamarase, que promove a hidrólise dos glicosídeos (Carvalho & Carvalho, 1979). O enxofre, presente em larga quantidade neste material, atrelado à presença de outras substâncias, tais como cetonas, aldeídos, cianalaninas, lectinas e outras proteínas tóxicas, inibidoras de amilases e proteinases, apresentam grande eficiência como agentes fungicidas. Um estudo realizado por Wong et al. (2011) demonstrou que a incorporação de folhas de mandioca seguida da solarização do solo inativou *Fusarium oxysporum*. Segundo Soriano (2011) as concentrações 20, 40 e 60% de manipueira foram capazes de inibir em 100% o crescimento micelial *in vitro* de *Phytophthora* sp. Observou-se neste estudo um efeito significativo no controle *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. *in vitro*, casa de vegetação e campo com a utilização de manipueira na concentração de 25%.

Os extratos das folhas de juá (*Z. joazeiro*) mostraram potencial inibitório frente às bactérias *Mycobacterium smegmatis* e *Micrococcus luteus* (Silva et al., 2011), *Lasiodiplodia theobromae* (Feitosa et al., 2000). Nas análises *in vitro* com *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp., o extrato de folhas de juá mesmo em

baixas concentrações inibiu o crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios desses patógenos. Em casa de vegetação e campo esse extrato a partir da concentração de 25% apresentou potencial fungitóxico contra os fungos causadores da queima das folhas em inhame.

O extrato de folha de velame mostrou potencial inibitório no controle de *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. *in vitro*, casa de vegetação e em campo para a cultura do inhame. Não foi encontrado na literatura registro desse extrato no controle de doenças fúngicas em inhame e em outras culturas.

As manchas foliares causadas por *Phyllosticta* sp. desapareceram das plantas nas duas áreas avaliadas aproximadamente 180 dias após plantio. Foi observada uma baixa severidade causada por este patógeno, confirmando que o mesmo tem importância secundária para a cultura do inhame. A elevada sensibilidade do patógeno às condições climáticas (Van Der Aa, 1973) pode estar relacionado a baixa incidência do fungo após 180 dias.

A aplicação dos extratos vegetais de manipueira e juá foi efetiva no controle da queima das folhas do inhame, aumentando o peso médio dos rizóforos de inhame. Estes extratos vegetais apresentaram grande potencial a ser explorado no cultivo do inhame em condições de campo, interferindo positivamente na produção e no estado vegetativo das plantas. Os compostos ativos dos extratos pouco estudados, como



juá e velame deverão ser identificados para que seu real potencial de aplicação no campo em maior escala sejam avaliados.

### Conclusão

Os extratos vegetais usados neste estudo indicaram grande potencial para o controle de doenças fúngicas, principalmente a manipueira e o extrato de folhas de juá. Esses extratos têm potencial para serem aplicados no cultivo do inhame em condições de campo, pois melhoraram as características fisiológicas de plantas de inhame.

### Agradecimentos

Os autores expressam agradecimentos a CAPES pela concessão de bolsa de Doutorado a primeira autora e ao CNPq pela bolsa de produtividade concedida ao segundo autor.

### Literatura Citada

- ABREU JÚNIOR, H. 1998. Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura: coletânea de receitas. Campinas, SP, EMOPI, 115p.
- AMADIOHA, A. C.; OBI, V. I. 1998. Fungitoxic Activity of Extracts from *Azadirachta indica* and *Xylopi aethiopica* on *Colletotrichum lindemuthianum* in Cowpea. Journal Herbs, Spices & Medicinal Plants 6:33-40.
- BALBI-PEÑA, M. I. 2005. Efeito do extrato do rizoma de *Curcuma longa* e solução de curcumina em *Alternaria solani* e controle de pinta preta em tomateiro. Dissertação Mestrado. Marechal Cândido Rondon, PR, UNIOEST. 50p.
- BONALDO, S. M. et al. 2004. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum langenarium* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. Fitopatologia Brasileira 29:128-134.
- CANDIDO e SILVA, E. K.; RODRIGUES, A. A. C.; VERAS, M. S. 2007. Efeito de resíduos orgânicos na supressão de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* em quiabeiros. Revista Brasileira de Agroecologia 2(1):1255-1258.
- CARDOSO, J. E. et al. 2001. Eficiência de Tiofanato Metílico e Clorotalonil no controle do míldio do meloeiro. Fortaleza, CE, EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. Comunicado Técnico nº 55.
- CARNEIRO, S. M. T. P. G. 2003. Efeito de extratos de folhas e de óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. Summa Phytopathologica (Brasil) 29:262-265.
- CARVALHO, R. A. et al. 2002. Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste. In: Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro, 2º. Anais. João Pessoa, PB, EMEPA 1:99-112.
- CARVALHO, V. D.; CARVALHO, J. G. 1979. Princípios tóxicos da mandioca. Informe Agropecuário (Brasil) 5 (59/60):82-88.
- FEITOSA, V. S. et al. 2000. Efeito da tintura, extrato bruto e sumo de plantas medicinais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Macrophomina phaseolina* "in vitro". Fitopatologia Brasileira 25:(Suplemento). p.374.
- FRANCO, A. 1986. Subsídios à utilização da manipueira como nematicida Dissertação Mestrado. Fortaleza, CE, UFC. 53p.
- FRANCO, A. et al. 1990. Dosagem de manipueira para tratamento de solo infestado por *Meloidogyne*: II segundo experimento. Nematologia Brasileira, 14(1):25-32.
- FRANZENER, G. et al. 2003. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. Acta Scientiarum 25:503-507.
- GARRIDO, M. D. S. et al. 2003. O estudo de novas tecnologias para a produção de inhame no estado da Bahia. Bahia Agrícola (Brasil) 6 (1):19-22.



- GARRIDO, M. D. S. 2005. Manejo agroecológico da cultura do inhame: produtividade, qualidade, controle de nematóides e manchas foliares. Dissertação Mestrado. Cruz das Almas, BA, UFBA / Escola de Agronomia. 73p.
- KUHN, O. J. et al. 2006. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. Sêmia: Ciências Agrárias (Brasil) 27 (1):13-20.
- LORENZI, J. O.; DIAS, C.A. C. 1993. Cultura da mandioca. Campinas, SP, CATI. Boletim Técnico nº 211. 41p.
- MARTINEZ, S. S. 2002. O Nim - *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, PR, IAPAR, 142p.
- MESQUITA, A. S. 2002. Inhame e taro: cenário dos mercados internacional, brasileiro e baiano. Bahia Agrícola (Brasil) 5(2): 54-64.
- MICHEREFF, S. J.; MAFFIA L. A.; NORONHA, M. A. 2000. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. Fitopatologia Brasileira 24: 174-180.
- MIGUEL, E. G. et al. 2006. Atividade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) sobre o crescimento de *Colletotrichum* spp. In: Congresso Paulista de Fitopatologia, 29°. Botucatu, SP. Summa Phytopathologica 32:18-18.
- NASCIMENTO, L. C.; NERY, A. R.; RODRIGUES, L. N. 2008. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. Acta Scientiarum Agronomy (Brasil) 30 (3):313-319.
- NERY, A. R. 2006. Avaliação de extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro. Dissertação Mestrado. Areia, PB, UFPb/CCA. 49p.
- PASSOS, A. N. 2006. Avaliação de extratos vegetais, indutores de resistência e fungicidas sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* e o desenvolvimento de antracnose pós-colheita em frutos de manga. Dissertação Mestrado. Areia, PB, UFPb/CCA. 43p.
- PENTEADO, S. R. 2001. A utilização dos defensivos alternativos na agricultura: histórico e perspectivas. In: Hein M.; Guedes, A. C. L.; Aguiar, M. S. In: Encontro de Processos de Proteção de Plantas, 1. Controle ecológico de pragas e doenças. Resumos. Botucatu, SP, Agroecológica pp.13-21.
- PEREZ, J. O. et al. 2004. Ocorrência de *Phyllosticta* sp. em inhame nos municípios de Cruz das Almas e Maragogipe-BA. Summa Phytopathologica (Brasil) 30:120
- PONTE, R. A. 2000. Use of the *manipueira* as agricultural input: defensive and fertilizer, In: Cereda, M. P. ed. Uso, manuseio e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca. São Paulo, SP, Fundação Cargill, v.4. pp. 80-95.
- RODRIGUES, E. et al. 2007. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotium* pelo extrato de gengibre. Summa Phytopathologica (Brasil) 33(2):124-128.
- RODRIGUES, E. 2004. Atividade antimicrobiana in vitro, indução de peroxidase e controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface cultivado organicamente pelo uso de extrato de gengibre. Dissertação Mestrado. Maringá, PR, UEM.
- SANTOS, E. S. et al. 1998. Contribuição tecnológica para a cultura do inhame no Estado da Paraíba. João Pessoa, PB, EMEPA. Documentos, nº 23. 84p.
- SANTOS, E. S. dos; MACÊDO, L. de S. 2002. Tendências e perspectivas da cultura do inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste do Brasil. In: Simpósio Nacional Sobre as Culturas do Inhame e do Taro. 2°. Anais. João Pessoa, PB, EMEPA. pp.21-31.
- SANTOS, E. S. 2002. Manejo da cultura do inhame. In: Carmo, C. A. S. Inhame e taro: sistema de produção familiar. Vitória, ES, INCAPER. pp 253-279.
- SANTOS, E. S. et al. 2007a. Inhame (*Dioscorea* sp.): Tecnologias de produção e preservação ambiental. Tecnologia e Ciência Agropecuária (Brasil) 1(1):31-36.

- SANTOS, A. S. et al. 2007b. Caracteres epidemiológicos e uso da análise de agrupamento para resistência parcial à ferrugem da soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42: 443-447.
- SILVA, T. C. L. et al. 2011. Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. *Revista Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada (Brasil)* 32:193-199.
- SOARES, A. C. F. et al. 2006. Soil streptomycetes with in vitro activity against the yam pathogens *Curvularia eragrostidis* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 456-461.
- SOARES, A. C. F. et al. 2008. Eficiência do acibenzolar-S-methyl na proteção de plantas de inhame à *Curvularia eragrostidis*. *Caatinga* 21(1):147-151.
- SORIANO, W. T. 2011. Avaliação de métodos alternativos no controle de *Phytophthora* sp em laranja pêra e limão cravo. Dissertação Mestrado. Rio Largo, AL, UFAL/CCA. 68p.
- TAVARES, C. C. H. et al. 1994. *Botryodiplodia theobromae* (Pat.) em mangueira no Vale São Francisco, IV proteção de pomares. *Fitopatologia Brasileira* 19: 292.
- VALE, F. X. R. et al. 2001. Quantificação de doenças - Quant: versão 1.0.1. Software. Viçosa, MG, UFV.
- VAN DER Aa, H. A. 1973. Studies in *Phyllosticta* I. Studies in Mycology nº5. Oxford, Centralalbureau voor Schimmelcultures 110p.
- WONG, L. C.; AMBRÓSIO, M. M. de Q.; SOUZA, N. L. 2011. Sobrevivência de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raça 2 submetido à técnica da solarização associada à incorporação de folhas de mandioca. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 37(2): 129-133.

## INDUTORES DE RESISTÊNCIA À *Moniliophthora perniciosa* EM PLÂNTULAS DE CACAUEIRO ATRAVÉS DA POTENCIALIZAÇÃO DAS SEMENTES

**Deraldo Ramos Vieira<sup>1</sup>, Stela Dalva Vieira Midlej Silva<sup>2</sup>, Virgínia Oliveira Damaceno<sup>2</sup>, Lindolfo Pereira dos Santos Filho<sup>2</sup>, Raúl René Valle<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>CEPLAC/ESOMI, BR 324, km 62 - São Sebastião do Passé, Bahia, Brasil. dramosvieira@ig.com.br; <sup>2</sup>CEPLAC/CEPEC, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

Os produtores de cacau do sul da Bahia enfrentam dificuldades na produção de plântulas sadias de cacaueiro (*Theobroma cacao*), devido à incidência da doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Com o objetivo de controlar a incidência da vassoura-de-bruxa em plântulas de cacaueiro, sete indutores de resistência foram aplicados nas sementes de cacau da variedade Maranhão suscetível à vassoura de bruxa, em diferentes concentrações e mistura destes por 24 horas. Após, as mesmas foram plantadas em tubetes contendo solo e aos 30 dias, as plântulas foram inoculadas na gema apical com 30 µL de uma suspensão de  $2 \times 10^5$  basidiósporos mL<sup>-1</sup>. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 5 repetições de 16 plântulas por parcela, 80 plântulas por tratamento, perfazendo um total de 2.400 plântulas. Decorridos 60 dias da inoculação procedeu-se avaliação da doença e os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott. Dos tratamentos, 12 diferiram estatisticamente das testemunhas, sendo o T2, T6, T7, T9, T10, T11 dos ensaios 1, 2, 3 e T22, T24, T25, T26, T27 e T29, dos ensaios 4, 5 e 6. O uso destes tratamentos são promissores no controle da vassoura-de-bruxa em plântulas de cacaueiro.

**Palavras-chave:** Resistência sistêmica adquirida, sacarose, PAMPs.

**Evaluation of inductors for resistance to *Moniliophthora perniciosa* of cocoa seedlings seeds through potentiation.** Farmers in southern Bahia have difficulties in producing healthy seedlings of cacao (*Theobroma cacao*), due to the incidence of witches' broom disease, caused by the fungus *Moniliophthora perniciosa*. Aiming to control the incidence of witches' broom in cocoa seedlings seven resistance inducers were applied in the cocoa seeds variety of Maranhão susceptible to witch's broom in different concentrations and mixtures for 24 hours. After, they were planted in plastic pots containing soil and after 30 days, the seedlings were inoculated at the apical with 30 µL of a suspension of  $2 \times 10^5$  basidiospores mL<sup>-1</sup>. The experimental design was randomized blocks with five replicates of 16 seedlings per plot, 80 seedlings per treatment, for a total of 2,400 seedlings. After 60 days of inoculation proceeded disease evaluation and data were subjected to analysis of variance and the Scott-Knott test. Of all the treatments, 12 were statistically different from the control, sense T2, T6, T7, T9, T10, T11 the assays, 2, 3 and T22, T24, T25, T26, T27, T29, assays 4, 5 and 6. The use these treatments are promising in control witches' broom of cocoa seedlings.

**Key words:** Systemic acquired resistance, saccharose, PAMPs.

## Introdução

Atualmente a sociedade está preocupada com a qualidade dos alimentos que consome, devido ao alto nível de contaminação com a variedade de agroquímicos utilizados na agricultura moderna, potencialmente prejudicial à saúde. A busca e a aplicação de inovações tecnológicas sustentáveis no cultivo do cacauzeiro e no processamento da amêndoa até o produto final, o chocolate, são prioridades da Ceplac (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira) (Ceplac et al., 2012). Essas tecnologias visam garantir alta produtividade na cultura e qualidade de vida para as gerações atuais e futuras. Seguindo essas diretrizes, a utilização de elicitores abióticos que induzam resistência sistêmica no cacauzeiro contra patógenos é uma alternativa economicamente viável, eficiente e ecologicamente aceitável. A indução de resistência sistêmica leva em consideração a ativação de mecanismos de defesa que se encontram latentes nas células das plantas (Conrath et al., 2006; Pastor et al., 2012).

Apesar da ausência de células de memória específica do sistema de defesa, a resposta de resistência sistêmica adquirida (RSA) nas plantas, confere também uma memória de longa duração, originada do ataque patogênico primário, porém muito menos específica do que a memória imunológica adaptativa em animais. Consequentemente, a RSA proporciona um estado permanente e elevado de resistência contra o ataque secundário de uma gama de agentes fitopatogênicos. Além disso, alguns estudos parecem indicar que esta memória imunitária pode, não apenas proporcionar proteção ao longo da vida da planta, mas esse tipo de resistência também é transmitido para as futuras gerações, através de mudanças epigenéticas que envolvem a metilação de DNA, remodelação de cromatina e aumento da recombinação de homólogos (Spoel & Dong, 2012, Luna et al., 2012, Slaughter et al., 2012, Walters e Paterson, 2012, Boyko et al., 2010, Molinier et al., 2006,).

As plantas podem ser sensibilizadas para uma rápida e potente ativação de resposta de defesa contra estresses bióticos e abióticos, pois estão equipadas com um sistema de proteção inato (Pastor et al., 2012). Essa resposta é desencadeada por “padrões moleculares associados à patógenos” (PAMPs), os quais protegem a planta contra a maioria dos microrganismos

potencialmente fitopatogênicos (Pastor et al., 2012). Dentre as várias maneiras de ativar esses mecanismos, a utilização de compostos naturais e/ou sintéticos, conhecidos como eliciadores, elicitores ou indutores de resistência tem se mostrado eficiente (Pastor et al., 2012; Conrath, 2011; Conrath et al., 2006).

Os produtores de cacau do sul da Bahia enfrentam dificuldades na produção de plântulas saudáveis de cacauzeiro (*Theobroma cacao*) devido à incidência da doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. A sacarose e outros indutores específicos têm sido utilizados para a indução de resistência em cacauzeiros adultos, devido à metabolização pela planta, por serem também substâncias de baixo custo, de fácil aquisição, e por apresentar baixo impacto ambiental, além de mostrar eficiência no controle da doença (Vieira e Valle, 2012).

Com o objetivo de controlar a incidência da vassoura-de-bruxa em plântulas de cacauzeiro, avaliou-se a eficiência de sete substâncias em diferentes concentrações e misturas como indutores de resistência quando aplicados em sementes.

## Material e Métodos

O experimento foi instalado em casa de vegetação na Estação Experimental Sóstenes de Miranda (Esomi/Ceplac), localizada no km 62 da BR 324, no município de São Sebastião do Passé, Bahia.

Sementes de cacauzeiro da variedade Maranhão, suscetível à vassoura-de-bruxa, após a retirada da mucilagem foram imersas por 24h em soluções de diferentes concentrações e mistura de indutores de resistência e as testemunhas em água destilada (Tabela 1), antes de efetuar o plantio em tubetes.

Aos 30 dias do plantio, as plântulas foram inoculadas aplicando 30 µL de uma suspensão de  $2 \times 10^5$  basidiósporos de *M. perniciosa* na gema apical. As plântulas inoculadas permaneceram por 48 h em câmara úmida, com umidade relativa acima de 90% e temperatura de 25 °C. Em seguida, foram removidas para casa de vegetação sob condições de ambiente natural. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 30 tratamentos 16 plântulas por parcela e cinco repetições, totalizando 80 plântulas por tratamento, perfazendo um total de 2.400 plântulas.

Tabela 1 – Relação dos indutores de resistência em *Theobroma cacao* a *Moniliophthora pernicioso* utilizados em seis ensaios

Ensaios	Tratamentos	AAs* (mM)	AS (mM)	S (mM)	KCl (mM)	CaCl <sub>2</sub> a (mM)	Misturas
1	T1	2,2					
	T2	5,5					
	T3	11,0					
	T4	22,0					
<b>T5 (testemunha)</b>							
2	T6		0,75				
	T7		2,5				
	T8		5,0				
	T9		7,5				
	T10		10,0				
3	T11			75			
	T12			150			
	T13			300			
	T14			450			
	T15			900			
4	T16				500		
	T17				375		
	T18				250		
	T19				125		
	T20				Q 200 mg/L		
5	T21					10	
	T22					20	
	T23					5	
	T24						AS 15 mM + G 0,6 M + CaCl <sub>2</sub> a 10 mM
6	T25						AS 15 mM+Q 200 mg/L+ CaCl <sub>2</sub> a 10mM
	T26						AS 7,5mM+Q 200 mg/L+ CaCl <sub>2</sub> a 10mM
	T27						AS 2,5mM+Q 200 mg/L+ CaCl <sub>2</sub> a 10mM
	T28						Extrato de óleo de Neem 1%
	T29						Extrato de óleo de Neem 2%
<b>T30 (testemunha)</b>							

\* AAs = ácido ascórbico; AS = ácido salicílico; S = sacarose; KCl = cloreto de potássio; CaCl<sub>2</sub> a = cloreto de cálcio anidro; Q = quitosona; G = glicose

Após 60 dias da inoculação, efetuou-se a avaliação nas plântulas, através da presença ou não de sintomas da vassoura-de-bruxa. Para os ensaios 1, 2 e 3, o T5 foi a testemunha comum a todos, enquanto T30 foi

para os ensaios 4, 5 e 6.

Os dados foram submetidos à análise de variância e a separação de grupos de médias foi realizada utilizando o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



## Resultados e Discussão

Neste trabalho, os indutores de resistência testados, aplicados nas sementes, evidenciaram a ocorrência do fenômeno da potencialização ou *priming* após a inoculação das plântulas com *M. perniciosa*.

Nos Ensaios 1, 2 e 3, os tratamentos T2 (ácido ascórbico 5,5 mM), T6, T7, T9 e T10 (ácido salicílico 0,75, 2,5, 7,5 e 10 mM, respectivamente) e T11 (sacarose 75 mM) a incidência da doença foi estatisticamente diferente da testemunha T5 (Figura 1). Os resultados mostraram a ação do ácido ascórbico (AAs), ácido salicílico (AS) e a sacarose (S) como indutores de *priming* em plântulas de cacaueteiro a *M. perniciosa*, com incidência de 60% (T2), 48,7% (T6), 60% (T7), 52,5% (T9), 46,2% (T10), 55% (T11) e a testemunha (T5) com 83,7% (Figura 1).

Ácido ascórbico (AAs) (vitamina C) é um importante antioxidante que regula o sistema redox (redução/oxidação) em plantas, e desempenha um papel de destaque no metabolismo dos vegetais relacionados com a fotossíntese, fotoproteção, crescimento da parede celular e a expansão das células, resistência ao estresse ambiental, síntese de etileno, giberelinas, antocianinas, e hidroxiprolina, dentre outras funções (Smirnoff e Wheeler, 2000). Sementes de *Vicia faba* foram tratadas com solução de AAs na concentração de 10 mM por 24 horas e inoculadas com *Botrytis fabae* Sard em casa

de vegetação. A incidência da doença avaliada as 24, 48 e 72 horas após a inoculação em casa de vegetação e, em condições naturais de campo aos 30, 45, e 60 dias após a indução, por um período de dois anos, foi reduzida, destacando este indutor como o mais eficiente dentre os utilizados (El-Hendawy et al., 2010). Resultados semelhantes foram verificados quando plântulas de *Solanum tuberosum* induzidas com solução de AAs 5,5 mM (1,0g L<sup>-1</sup>) apresentaram resistência às doenças causadas por *Alternaria solani* e *Phytophthora infestans*, quando comparadas à testemunha, tanto em casa de vegetação como em condições de campo (Nadia et al., 2007).

O AS é um fitormônio que participa de uma rede complexa de sinalização em plantas, principalmente com os mecanismos que regulam a resistência contra patógenos. Também participa nos eventos que ocorrem no sítio de infecção, como na morte de células da planta e em regiões remotas do sítio de infecção, quando a resistência sistêmica se estabelece (Vlot et al., 2009; Ryals, 1996). O AS se mostrou eficiente como indutor de resistência no controle da vassoura de bruxa em plantas de cacaueteiro do clone ICS 1 (Vieira & Valle, 2012). É possível que nesse mecanismo de pré-estresse induzido pelo AS, a resistência a *M. perniciosa* tenha ocorrido pela acumulação de mRNA e as proteínas kinases ativadoras de mitógenos (MPKs) comprovadamente envolvidas no acionamento do

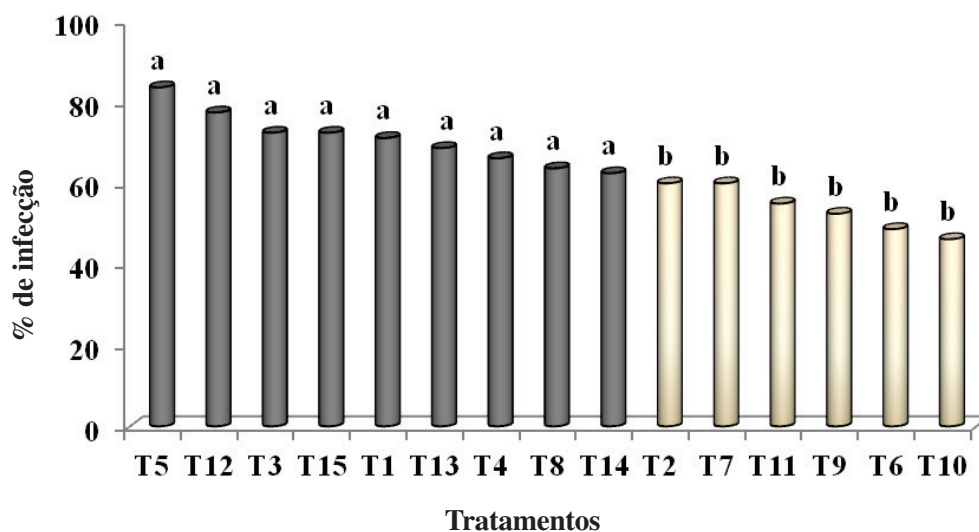


Figura 1. Incidência de *Moniliophthora perniciosa* em plântulas de *Theobroma cacao* potencializadas com indutores de resistência aplicados diretamente nas sementes. Ensaios 1, 2 e 3.

*priming*, como a MPK3 e MPK6, conforme constatado em plantas de *Arabidopsis thaliana* submetidas a AS na concentração de 300  $\mu$ M (Beckers et al., 2009). Em salsa (*Petroselinum hortense*), suspensões de células tratadas com AS a 500  $\mu$ M, não alteraram significativamente a indução do gene que expressa fenilalanina amônia liase (PAL), enzima relacionada com defesa e estado de *priming*. Todavia, quando as células foram pré-tratadas com AS, em concentrações de 50 até 500  $\mu$ M e depois submetidas a doses baixas de um elicitor de *Phytophthora sojae*, altas concentrações de mRNA de PAL foram encontradas, indicando que o AS tinha pré condicionado as células de salsa para a expressão potencializada de genes induzíveis por elicitores, tais como o que expressa para a PAL (Conrath et al., 2006). Plantas de *Medicago sativa* (alfafa) submetidas à indução de resistência via sementes com AS a 10 mM, durante um período de 6 horas desenvolveram resistência em condições naturais de campo às doenças causadas por *Uromyces striatus* e *Peronospora trifoliorum*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* spp., *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Pythium* spp., além de aumentar a produção com relação ao controle (Morsy et al., 2011). Sementes de *Vicia faba* foram tratadas com solução de AS 10 mM por 24 h e em seguida plantadas em tubetes contendo solo. Aos 21 dias, as plântulas foram inoculadas com *Botrytis fabae* e a incidência da doença avaliada 24, 48 e 72 horas após a inoculação em casa de vegetação, condições naturais e também no campo aos 30, 45 e 60 dias após a indução, por um período de 2 anos. O resultado em casa de vegetação mostrou que AS reduziu a incidência da doença de 75,2 a 83,3 %, enquanto no campo, os resultados de dois anos, apresentaram menor eficiência atingindo até 22 %.

Resende et al. (2002) aplicaram Benzothiadiazole (BTH), um análogo de AS, nas concentrações de 20, 80 e 150  $\text{g L}^{-1}$  nos intervalos de 3, 15 e 30 dias antes da inoculação em plântulas de cacaueiro Catongo. Eles obtiveram uma redução na percentagem de plântulas infectadas de 34 a 85 %, enquanto que na testemunha, a percentagem de plantas infectadas foi de 69,1%. Este indutor mostrou-se como potente ativador de resistência sistêmica em condições de campo, contra uma série de patógenos e insetos em várias culturas (Görlach et al., 1996)

Sacarose (S) na concentração de 300 mM aplicada via sistema radicular em plantas de arroz induziu *priming* e desenvolveu resistência contra brusone, doença provocada por *Magnaporthe oryzae* (Gomez-Ariza et al., 2007). Eixos de embrião de *Lupinus luteus* cv. Polo (tremoço) cultivados em solução de S a 60 mM e inoculados com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lupini* estimularam a atividade das enzimas PAL (EC 4.3.1.24), calcona sintase (EC 2.3.1.74), calcona isomerase (EC 5.5.1.6) e da isoflavona sintase (EC 1.14.13.86), das 12 às 48 horas após a inoculação, superando a atividade nos controles com e sem inoculação e sem S. Esse resultado sugere que a S está envolvida nos mecanismos de resistência contra fitopatógenos, através da rota dos fenilpropanoides (Morkunas et al., 2011). Resultados semelhantes foram encontrados por Serrano et al. (2012) quando induziram a produção da enzima calcona sintase em plantas de *Arabidopsis thaliana*, através da adição de S 100 mM no meio nutritivo. Os carboidratos estão envolvidos em muitas rotas metabólicas e de sinalização em plantas, podendo contribuir nas respostas do sistema imune contra patógenos, como moléculas de sensibilização ou *priming*, desencadeando os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (Moghaddam & Van den Ende, 2012). Em *Nicotiana tabacum* cv SNN resistente a *Phytophthora nicotianae*, até 12 horas após a inoculação houve um aumento de 250% nos níveis de sacarose no apoplasto e uma super expressão das enzimas invertase ácida e glucose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), síntese de calose, reação de hipersensibilidade, produção de espécies reativas de oxigênio, aumento significativo de hexoses (Scharte et al., 2005). A sacarose é um poderoso indutor de antocianinas (Solfanelli et al., 2006), e de proteínas de defesa em plantas, denominadas proteínas relacionadas com patogênese (proteínas RP ou PR proteins) como a PR 2 e PR 5 em plantas de *Arabidopsis thaliana* submetidas a solução de sacarose a 2% (Thibaud et al., 2004).

Nos ensaios 4, 5 e 6 os tratamentos T22, T24, T25, T26, T27 e T29 apresentaram incidência de vassoura de bruxa nas plântulas de 53,8; 42,6, 63,8, 58,8, 48,8 e 62,5%, respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha inoculada T30 com 88,8% (Figura 2). O T22 (CCA 20 mM) mostrou o efeito do  $\text{Ca}^{+}$  como molécula sinalizadora de mecanismos de defesa contra estresses bióticos.

Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) submetidas ao tratamento com solução de cálcio a 8 mM adicionada ao meio nutritivo e submetidas à inoculação com o fungo *Botrytis cinerea*, controlou a doença por induzir a expressão de vários genes envolvidos em mecanismos de resistência como o *NPR1*, *PRI*, *EDS1*, *PAD4*, *BA2H*, *ICS1*, como também produziu AS livre e conjugado, após 12 horas da inoculação, em níveis superiores ao controle (Li et al., 2012). No trabalho de El-Hendawy et al. (2010) sementes de *Vicia faba* (fava) foram tratadas com solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) na concentração de 10 mM e receberam os mesmos procedimentos utilizados para AS. Os resultados mostraram que o  $\text{CaCl}_2$  reduziu a incidência de doença causada por *Botrytis fabae* Sard de 71,8 % e 61 %, em casa de vegetação e campo, respectivamente, em relação à testemunha.

O tratamento 24 (mistura de AS 15 mM + G 0,6 M +  $\text{CaCl}_2$  10 mM) nas proporções de 72, 18 e 10 % respectivamente, mostrou que os três indutores interagiram, pois além de suas funções essenciais como substratos de carbono, energia e biossíntese de polímeros dos vegetais, a G têm características hormonais, na função de mensageiro primário na transdução de sinais (Rolland et al., 2002), modulação e coordenação dos mecanismos internos da planta de acordo com as condições ambientais, promovendo o crescimento e desenvolvimento (Koch, 1996; Sheen,

1999; Rolland et al., 2002). Hexoquinases funcionam como sensores de G na modulação da expressão de genes e múltiplas rotas na sinalização de hormônios (Rolland et al., 2002). Em culturas de células de *Chenopodium rubrum*, sob o efeito de G de 20 a 100 mM foi produzida altas concentrações das enzimas envolvidas em mecanismos de defesa vegetal, como a fenilalanina amônia-liase (PAL) e invertase da parede celular (CWI-Invertase da Parede Celular), como também reprimiu a Rubisco, afetando negativamente a atividade fotossintética (Ehness, 1997). Resultados semelhantes foram encontrados por Roitsch et al. (2003) trabalhando com cultura de células de tomate, quando verificaram que a G induziu o aumento da atividade das enzimas invertase (EC 3.2.1.26) e PAL. Trabalho desenvolvido por Essmann et al. (2008) mostrou que um RNA interferente em plantas de fumo resistente a *Phytophthora nicotianae* impediu a ação da invertase ácida apoplástica, obstruindo a quebra da molécula de S, provocando uma queda acentuada nos níveis de G e aumento na suscetibilidade à doença pelos baixos níveis de deposição de calose, síntese de proteínas RPs, da PAL, reação de hipersensibilidade e produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , da G6PDH.

A utilização da G na mistura dos tratamentos provavelmente imobilizou o excesso de AS na forma glicosídica, tanto no momento da indução e após a inoculação no local infectado por *M. perniciosa*. A

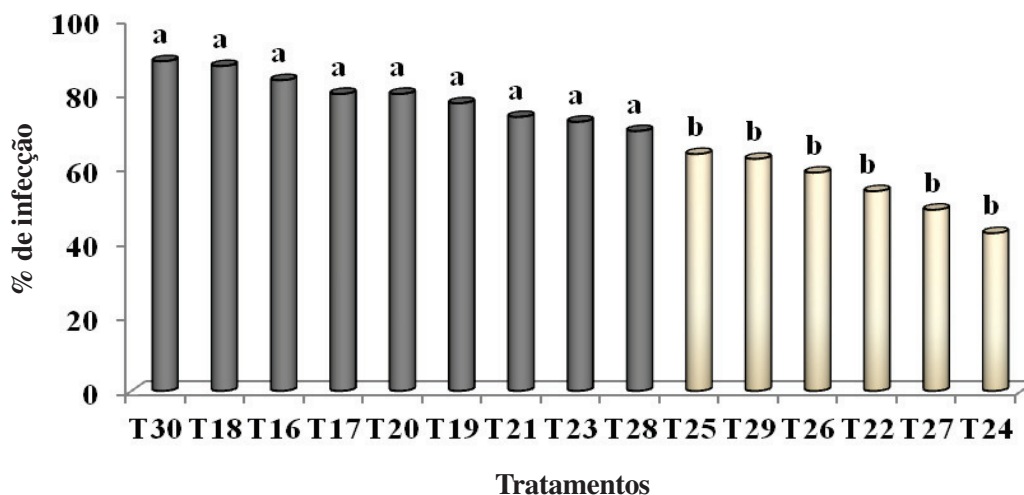


Figura 2. Incidência de *Moniliophthora perniciosa* em plântulas de *Theobroma cacao* potencializadas com indutores de resistência aplicados diretamente nas sementes. Ensaios 4, 5 e 6

forma glicosídica tem a função de regular a presença do AS nos sítios de infecção, evitando o seu efeito fitotóxico quando em excesso, além de manter uma reserva da substância para futuras necessidades (Vlot et al., 2009; Kawano et al., 2004). Folhas de fumo inoculadas com o vírus TMV, apresentou altos níveis de AS na forma glicosídica no sítio de infecção (Seo et al., 1995; Lee et al., 1995). Muitos trabalhos publicados identificam a molécula de  $\text{Ca}^{2+}$  como fator essencial para a ação do AS durante a indução dos mecanismos de defesa de plantas, uma vez que o  $\text{Ca}^{2+}$  desempenha um papel chave como mensageiro secundário para muitos processos relacionados aos mecanismo de defesa de plantas contra patógenos (Knight et al., 1991; Sanders et al., 1999).

O tratamento 25 (mistura de AS 15 mM (64%), Q 200 mg L<sup>-1</sup> (16%), CCA 10 mM), o T26 (mistura de AS 7,5 mM+ Q 200 mg L<sup>-1</sup>+ CCA 10 mM) e o T27 (mistura AS 2,5 mM + Q 200 mg L<sup>-1</sup> + CCA 10 mM) também mostraram eficiência no controle da vassoura-de-bruxa. Nestes três tratamentos, a Q derivada de um polissacarídeo catiônico produzido através da deacetilação da quitina, aparece como um dos componentes exógeno, proveniente de parede celular de patógenos e que faz parte de um Padrão Molecular Associado a Patógeno (PAMPS) (Iriti & Faoro, 2009). A Q induz a resistência sistêmica, através de estímulos à produção de  $\text{Ca}^{2+}$ , ativação de MAP quinases, aposição de calose, explosão oxidativa, reação de hipersensibilidade dentre outras atividades (Iriti & Faoro, 2009). Quando pulverizada em plantas de tomate na concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> foi eficiente no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* quando comparada a testemunha somente com água destilada (Paz-Lago et al., 2000). Sementes de milho tratadas com Q 2,5 g L<sup>-1</sup> controlou o míldio causado pelo fungo *Sclerotinia graminicola* em casa de vegetação e campo, em 79 e 76%, respectivamente, pela ação das enzimas quitosanase (EC 3.2.1.132) e peroxidase, quando comparada a testemunha (Manjunatha et al., 2008). Resultados semelhantes foram encontrados por Nandeeshkumar et al. (2008) em sementes de *Helianthus annuus* (girassol) quando induzidas por Q 2g L<sup>-1</sup>, obtiveram o controle do míldio causado pelo fungo *Plasmopara halstedii*, tanto em casa de vegetação como a campo, com redução da severidade da doença de 46 e 52 %, respectivamente.

Também indicou que o mecanismo de indução de resistência na cultivar suscetível Morden, envolveu a super expressão de proteínas como a catalase, a PAL e proteínas relacionadas com patogênese como a Pr-1a,  $\alpha$ -1,3-glucanase, quitinase, peroxidase e calcon sintase, em níveis semelhantes a cultivar resistente .

O tratamento 29 (extrato do óleo de neem (*Azadirachta indica*) a 2%) também reduziu a incidência da vassoura de bruxa. Sementes de alfafa (*Medicago sativa*) tratadas com extrato de neem a 1%, durante 6 horas, desenvolveram resistência em plantas adultas, em condições de campo, contra as doenças da ferrugem, mofo (parte aérea) e murcha e podridão da raiz, durante dois anos, quando comparadas com o controle (Morsy et al., 2011). Plantas de grão de bico (*Cicer arietinum*) pulverizadas com neem a 2% e inoculadas com o fungo *Ascochyta rabiei* reduziram a incidência da ferrugem em 48%, enquanto as plantas testemunhas somente 18% (Sarwar et al., 2011). Plântulas de *Cucumis sativus* L. (pepino) com pulverizações do extrato de óleo de neem nas concentrações de 0,5, 1,0, 1,5, e 2% e inoculadas após 24 h com o fungo *Podosphaera xanthii* ao serem avaliadas após uma semana, o tratamento a 2% foi o mais eficiente, com um controle da doença de 94,7%, enquanto que as plantas testemunhas apresentaram uma incidência de 80%. A ação indutora foi relacionada com uma super expressão de PAL, TAL (Tirosina Amonia Liase) e fitoalexinas (Aboellil, 2007).

## Conclusão

O uso de indutores de resistência em plântulas de cacaueiros via sementes foi promissor na redução de infecção de *Moniliophthora pernicioso* (vassoura-de-bruxa).

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos colegas Carlos Josafá Oliveira e Jorge Luiz Rizério Mafrá Ney pela colaboração durante os ensaios em execução na Estação Experimental Sósthene de Miranda do Cepec/Ceplac.



## Literatura Citada

- ABOELLIL, A. H. 2007. Trilogy, a product of neem (*Azadirachta indica*) induces resistance in cucumber against *Podosphaera xanthii*. Research Journal of Microbiology 2:402-414.
- BECKERS, G. J. M. et al. 2009. Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Cell 21:944-953.
- BOYKO, A. et al. 2010. Transgenerational adaptation of *Arabidopsis* to stress requires DNA methylation and the function of dicer-like proteins. Public Library of Science 5:1-12.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. 2012. Inovação Tecnológica e Sustentabilidade. In: Congresso Brasileiro do Cacau, 3. Ilhéus, Bahia. Circular I.
- CONRATH, U. et al. 2006. Priming: getting ready for battle. Molecular Plant Microbe Interact 19:1062-1071.
- CONRATH, U. 2011. Molecular aspects of defence priming. Trends in Plant Science 16:524-531.
- EHNESS, R. et al. 1997. Glucose and stress independently regulate source/sink relations and defense mechanisms via signal transduction pathways involving protein phosphorylation. The Plant Cell 9:1825-1841.
- EL-HENDAWY, S.; SHABAN, W.; SAKAGAMI, J. I. 2010. Does treating faba bean seeds with chemical inducers simultaneously increase chocolate spot disease resistance and yield under field conditions? Turkish Journal Agriculture Forestry 34:475-485.
- ESSMANN, J. et al. 2008. RNA interference-mediated repression of cell wall invertase impairs defense in source leaves of tobacco. Plant Physiology 147: 1288-1299.
- GÓMEZ-ARIZA, J. et al. 2007. Sucrose-mediated priming of plant defense responses and broad spectrum disease resistance by overexpression of the maize pathogenesis-related PRms protein in rice plants. Molecular Plant-Microbe Interactions 20:832-842.
- GÖRLACH, J. et al. 1996. Benzothiadiazole. A novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. The Plant Cell 8:629-643.
- IRITI, M.; FAORO, F. 2009. Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. Plant Signaling & Behavior 4:66-68.
- KAWANO, T. et al. 2004. Controlled salicylic acid levels and corresponding signaling mechanisms in plants. Plant Biotechnology 21:319-335.
- KNIGHT, M. R. et al. 1991. Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on cytosolic calcium. Nature 352:524-526.
- KOCH, K. E. 1996. Carbohydrate modulated gene expression in plants. Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology 47:509-540.
- LI, L. et al. 2012. Role of calcium in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistance to *Botrytis cinerea*. African Journal of Biotechnology 11:9013-9022.
- LEE, H. I.; LEON, J.; RASKIN, R. 1995. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences 92:4076-4079.
- LUNA, E. et al. 2012. Next-Generation Systemic Acquired Resistance. Plant Physiology 158:844-853.
- MANJUNATHA, G. et al. 2008. Chitosan enhances disease resistance in pearl millet against downy mildew caused by *Sclerospora graminicola* and defence-related enzyme activation. Pest Management Science 64:1250-7.
- MOGHADDAM, M. R. B.; VAN den ENDE, W. 2012. Sugars and plant innate immunity. Journal of Experimental Botany 63:3989-3998.
- MOLINIER, J. et al. 2006. Transgeneration memory of stress in plants. Nature Letters 442:1046-1049.
- MORKUNAS, I. et al. 2011. Cross-talk interactions of sucrose and *Fusarium oxysporum* in the



- phenylpropanoid pathway and the accumulation and localization of flavonoids in embryo axes of yellow lupine. *Journal of Plant Physiology* 168: 424-433.
- MORSY, K. M.; ABDEL-MONAIM, M. F.; MAZEN, M. M. 2011. Use of abiotic and biotic inducers for controlling fungal diseases and improving growth of alfalfa. *World Journal of Agricultural Sciences*. pp.566-576.
- NADIA, G. et al. 2007. Induction of systemic resistance in potato plants against late and early blight diseases using chemical inducers under greenhouse and field conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3:73-81.
- NANDEESHKUMAR, P. et al. 2008. Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72:188-194.
- PASTOR, V. et al. 2012. Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany* doi:10.1016/j.envexpbot.2012.02.013.
- PAZ-LAGO, D., et al. 2000. Tomato -*Fusarium oxysporum* interactions II-Chitosan and MSB induced resistance against FOL in Young tomato plants. *Cultivos Tropicales* 21:17-20.
- RESENDE, M. L. V. et al. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahlia* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathology* 51:621-628.
- ROITSCH, T. et al. 2003. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein. *Journal of Experimental Botany* 54:513-524.
- ROLLAND, F.; MOORE, B.; SHEEN, J. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell* 14(Supplement):185-205
- RYALS, J. A. et al. 1996. Systemic acquired resistance. *The Plant Cell* 8:1809-1819.
- SANDERS, D. et al. 1999 Communicating with calcium. *The Plant Cell* 11:691-706.
- SARWAR, N. et al. 2011. Induced systemic resistance in Chickpea against *Ascochyta* blight by safe chemicals. *Pakistan Journal of Botany* 43:1381-1387.
- SCHARTE, J. et al. 2005. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with *Phytophthora nicotianae*. *Plant Cell and Environment* 28:1421-1435.
- SERRANO, M. et al. 2012. Repression of sucrose/ultraviolet B light-induced flavonoid accumulation in microbe associated molecular pattern-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 158:408-422.
- SEO, S.; ICHIZAWA, K.; OHASHI, Y. 1995. Induction of salicylic acid in tobacco leaves by exogenous salicylic acid. *Plant Cell Physiology* 36:447-453.
- SHEEN, J. 1999. C4 gene expression. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology* 50: 187-217.
- SLAUGHTER, A. et al. 2012. Descendants of Primed Arabidopsis Plants Exhibit Resistance to Biotic Stress. *Plant Physiology* 158:835-843.
- SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. 2000. Ascorbic Acid in Plants: Biosynthesis and Function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35:291-314.
- SOLFANELLI, C. et al. 2006. Sucrose specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in Arabidopsis. *Plant Physiology* 140:637-646.
- SPOEL, S. H.; DONG, X. 2012. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature Reviews* 12:89-100.
- THIBAUD, M. C. et al. 2004. Sucrose increases pathogenesis-related PR-2 gene expression in *Arabidopsis thaliana* through an SA-dependent but NPR1-independent signaling pathway. *Plant Physiology and Biochemistry* 42:81-88.
- VIEIRA D. R.; VALLE R. R. 2012. Indução de resistência sistêmica em plantas contra fitopatógenos. In: Valle, R. R. ed. *Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacauero*. pp. 303-337.

- VLOT, A. C.; DEMPSEY, D. A.; KLESSIG, D. K. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review Phytopathology* 47:177-206.
- WALTERS, D. R.; PATERSON, L. 2012. Parents lend a helping hand to their off spring in plant defence. *Biology Letters* 8:871-873.
-

## CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Caesalpinia echinata* EM FUNÇÃO DE DIFERENTES SUBSTRATOS

*Paulo Cesar Lima Marrocos<sup>1</sup>, Tayla R. Marrocos<sup>2</sup>, George Andrade Sodré<sup>1</sup>, Katia Curvelo<sup>1</sup>, Dan Erico Lobão<sup>1</sup>, Raul René Valle<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>CEPLAC/CEPEC, km 22, Rod Ilhéus - Itabuna, Caixa Postal 7, 5600-970 - Ilhéus, Bahia, Brasil.  
marrocos@ceplac.gov.br; sodre@ceplac.gov.br; katiacurvelo@ceplac.gov.br; dan@ceplac.gov.br; raul@ceplac.gov.br.

<sup>2</sup>Engenharia Ambiental - Rua Rio Almada, 94, Góes Calmon, 45605-375 - Itabuna, Bahia, Brasil.  
taylamarrocos@hotmail.com

Um componente básico na produção de mudas é o meio de cultivo, portanto, é necessário avaliar e selecionar substratos que atendam as exigências da espécie e sejam de fácil aquisição. Este estudo avaliou efeitos de substratos sobre o crescimento de mudas de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil). Os tratamentos foram: T<sub>1</sub>: solo; T<sub>2</sub>: composto da casca de cacau (CCC); T<sub>3</sub>: solo + composto da casca de cacau 1:1 (v/v); T<sub>4</sub>: solo + composto da casca de cacau 1/3 + 2/3 (v/v). O arranjo experimental foi em blocos ao acaso, com nove repetições e dez plantas por unidade experimental. Foram avaliadas: altura e diâmetro à altura do coleto aos quatro, seis e oito meses após o plantio. O material vegetal foi coletado e pesado obtendo-se a área foliar e a massa seca. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias classificadas pelo teste de Tukey a  $p < 5\%$ . Houve maior variação de macronutrientes nas folhas apicais do que nas basais em função do substrato, com exceção do P e do K, disponibilizados em maiores proporções no CCC. O crescimento de mudas foi maior em solo e nas misturas solo:CCC. O substrato CCC não deve ser usado, de forma isolada, na produção de mudas de *C. echinata*.

**Palavras-chave:** pau-brasil, composto de casca de cacau, espécie arbórea nativa.

### **Growth of *Caesalpinia echinata* seedlings as a function of different substrates.**

One basic component in seedling production is the cropping media; therefore, it is necessary to evaluate and select substrates that meet the species requirements and are easy to obtain. This study evaluated the effect of substrates on growth of *Caesalpinia echinata* (Brazilian wood) seedlings. The treatments were: T<sub>1</sub>: soil, T<sub>2</sub>: cacao husks compost (CCC), T<sub>3</sub>: soil + cacao husks compost 1:1 (v/v), T<sub>4</sub>: soil + cacao husks compost 1/3 + 2/3 (v/v). The experimental layout was a randomized block design with nine replications and 10 plants per experimental unit. The evaluated variables were: height and stem diameter at four, six and eight months after planting; plant material was harvested and dry mass weights and leaf area obtained. Data were subjected to analysis of variance, mean were ranked by Tukey's test at  $p < 5\%$ . There was higher variation of macronutrients in the apical than in the baseline leaves as a function of substrate, with the exception of P and K, available in large proportion in CCC. Seedling growth was higher in soil and soil:CHC mixtures. CHC should not be used alone in the production of *C. echinata* seedlings.

**Key words:** Brazilian wood, cacao husks compost, native tree species.

## Introdução

A baixa qualidade das mudas de espécies florestais disponibilizadas no mercado consumidor, na maioria das vezes, é devido aos baixos investimentos na sua produção. Pesquisas sobre a qualidade do substrato para produção de espécies ameaçadas de extinção, principalmente em áreas que representem riscos ecológicos, caso da floresta atlântica, são essenciais para definir alternativas que pressupõem alta produtividade sem comprometer a qualidade das mudas.

A *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) é considerada uma das espécies arbóreas da Mata Atlântica sob maior pressão antrópica, consequência de uma exploração irracional ao longo de 500 anos que gerou drástica diminuição populacional, fragmentação e redução excessiva de seu habitat natural. Espécie mundialmente conhecida pela qualidade e elevado valor comercial de sua madeira, encontra-se atualmente restrita a pequenas populações naturais, o que a torna uma espécie em risco de extinção (Lobão, 2007). Por ter sido o primeiro e mais importante produto de exportação nos primórdios da história do Brasil foi oficialmente declarada Árvore Nacional em 1978 (Lei 6.607 de 07/12/1978). Apesar do desconhecimento quanto à precisão do grau de pressão antrópica exercida sobre a espécie, sabe-se que em muitas áreas de ocorrência natural foi erradicada, evidenciando a necessidade em garantir sua sobrevivência em bases sustentáveis (CEPLAC, 2004).

De acordo com Gonçalves e Poggiani (1996), a boa formação de mudas destinadas à implantação de povoamentos florestais, para a produção de madeira e/ou povoamentos mistos para fins de conservação e recuperação de áreas degradadas, está relacionada com o nível de eficiência dos substratos utilizados.

Diversos materiais de origem vegetal e animal têm sido utilizados no preparo de compostos orgânicos para produção de mudas. A escolha do substrato, no que se refere a sua formulação, deve ser feita em função da disponibilidade de materiais, das características físicas e químicas, do peso e do custo (Toledo, 1992). É necessário, portanto, testar substratos de fácil aquisição, alternativos a outros compostos comerciais que, geralmente, elevam o custo

de produção (Gomes et al., 1991).

O sucesso dos programas de implantação, revitalização e formação de florestas de alta produção ocorre quando os métodos e sistemas empregados pelos viveiristas priorizarem a qualidade das mudas a serem plantadas. Portanto, além da resistência às condições adversas encontradas no campo e no pós-plantio, as mudas deverão sobreviver e, por fim, produzir árvores com crescimento volumétrico economicamente desejável (Oliveira et al., 2008).

A *C. echinata* em condições naturais, por ser uma espécie climássica, deposita suas sementes na serapilheira, germinando em meio com matéria orgânica, o que fornece condições para o desenvolvimento satisfatório da plântula. Portanto, isto sugere a necessidade de colocar no substrato matéria orgânica (Curvelo et al., 2008). Adicionalmente, pesquisas devem ser realizadas para definir o tipo e a proporção a serem utilizadas.

Nesse contexto, a análise das influências exercidas no desenvolvimento das mudas em viveiro pelos resíduos empregados é de grande importância na produção de mudas, visto que, seus resultados podem subsidiar o manejo adequado para o sucesso da atividade. Este trabalho avaliou o crescimento de mudas de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) em função da composição do substrato utilizado.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa do Cacau (Cepec/Ceplac) localizado em Ilhéus, Bahia, Brasil, a uma altitude média de 30 metros acima do nível do mar, inserida na bacia hidrográfica do rio Cachoeira. Mudas seminais de *C. echinata* Lam. foram cultivadas em casa de vegetação, em sacos plásticos de 2,2 dm<sup>3</sup>, com os seguintes tratamentos: T<sub>1</sub> = solo; T<sub>2</sub> = composto da casca de cacau (CCC); T<sub>3</sub> = solo + composto da casca de cacau 1:1 (v/v); T<sub>4</sub> = solo + composto da casca de cacau 1/3 + 2/3 (v/v). No tempo zero, foram coletadas amostras do solo utilizado (Nitossolo Háplico Eutrófico) e do composto da casca de cacau para análise (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química do solo e do composto da casca de cacau utilizados para a produção das mudas de *Caesalpinia echinata*

Substrato	pH	K cmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup>	Ca	Mg	P mg dm <sup>3</sup>	Fe	Zn	Cu	Mn
Solo <sup>1</sup>	5,3	0,12	8,5	4,2	8,0	100	4,4	6,7	211
CCC <sup>2</sup>	5,2	1620	128	276	204	0,04	0,15	-	0,73

<sup>1</sup>Ca e Mg = Extrator KCl 1M; K, P, Fe, Zn, Cu e Mn = Extrator Mehlich 1. <sup>2</sup> Extrato de Saturação – 1:1,5 (v:v) – (mg L<sup>-1</sup>)

Foi realizada adubação em solo e no substrato, com adição de 100g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/m<sup>3</sup> e, após as plantas terem atingido 10 cm, fez-se aplicação quinzenal, via água de irrigação, de adubação à base de NPK (2,5g/L de 20-0-20) nos dois primeiros meses e mensal a partir daí por diante, equivalente a 50% da recomendação de Barros e Stringheta (1999) para plantas ornamentais arbóreas e arbustivas. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, com nove repetições, sendo a unidade experimental composta por dez sacos plásticos de 2,2 dm<sup>3</sup> contendo uma muda de *C. echinata* cada um. Foram avaliadas as variáveis: altura da planta (AP) e diâmetro à altura do coleto (DC), aos dois, quatro, seis e oito meses.

Após o período experimental, o material vegetal foi coletado, separado em folhas (apical e basal), caule e raízes, sendo então mensurada a área foliar (AF). O material coletado foi lavado em água deionizada e seco em estufa com circulação forçada de ar a 70°C, até atingir peso constante. Em seguida, o material foi pesado determinando a massa seca de folhas (MSF), caule (MSC), e raízes (MSR). A massa seca total (MST) foi determinada pela soma dos componentes da planta. O material foi moído em moinho Willey até passar em peneira com 20 mesh de abertura de malha e mineralizado para determinação de N via digestão sulfúrica.

Para a determinação dos demais elementos as amostras foram digeridas em mistura nítro-perclórica. As determinações de N foram feitas pelo método de Kjeldahl (Jackson, 1958), o P foi dosado colorimetricamente pelo método de redução do fosfomolibdato pela vitamina C, descrito por Braga e Defelipo (1974), e o K, por fotometria de emissão de chama; Ca, Mg, Cu, Zn, Mn e Fe por espectrofotometria de absorção atômica. Foram utilizados testes de hipótese para comparação das inclinações, dos interceptos e da identidade dos modelos até 10% de significância, com uso do procedimento PROC REC do pacote estatístico

SAS® (Freire e Santos Filho, 1989). Os demais dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância, também com uso do pacote estatístico SAS®.

## Resultados e Discussão

Para a variável AP, a comparação das inclinações das retas revelou menor incremento das mudas de *C. echinata* no tratamento T<sub>2</sub>. Não houve diferença entre os interceptos, enquanto que, em relação à identidade dos modelos, a análise revelou, também, diferenças entre o tratamento T<sub>2</sub> e os demais (Figura 1; Tabela 2). Para o DC, a análise da inclinação das retas revelou diferenças significativas entre os tratamentos T<sub>3</sub> e T<sub>2</sub> e, não houve diferença significativa entre os interceptos. O teste de identidade dos modelos revelou diferenças significativas entre o tratamento T<sub>2</sub> e os demais, de forma que se pode representar os tratamentos T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> com um único modelo (Figura 2; Tabela 2).

Para as variáveis AF, MSF, MSC, MSR e MST, o teste de médias revelou que o tratamento T<sub>2</sub> teve menor área foliar e menor acúmulo de massa seca que os demais tratamentos (Tabela 3). Os resultados da análise foliar de macronutrientes (Tabela 4) mostraram que houve maior variação em função do substrato nas folhas apicais do que nas basais, com exceção do P e do K, disponibilizados em maiores proporções no CCC. Diferenças significativas, nos teores de micronutrientes, foram observadas entre folhas apicais e basais de *C. echinata* crescendo em solo (Tabela 5).

Apesar de *C. echinata* se estabelecer, em condições naturais, em solos com alto teor de matéria orgânica, o tratamento T<sub>2</sub> (apenas matéria orgânica), apresentou o menor crescimento das mudas. Pode-se perceber, também, que embora as misturas de substratos não tenham sido estatisticamente diferentes do solo, há tendência de maior crescimento das mudas de *C.*



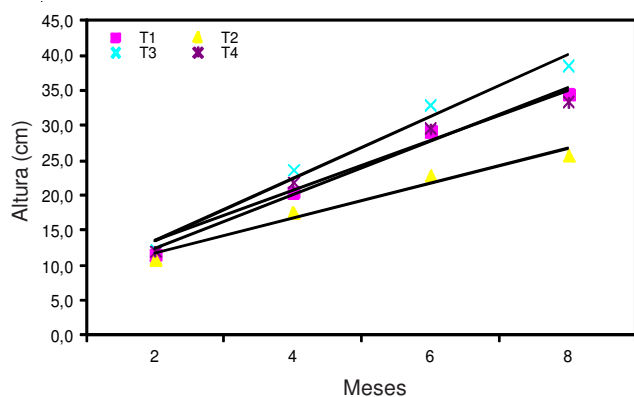


Figura 1. Altura da planta (AP), de mudas de *Caesalpinia echinata*, em função dos diferentes substratos ao longo de oito meses. T<sub>1</sub> = solo, T<sub>2</sub> = composto da casca de cacau, T<sub>3</sub> = solo + composto da casca de cacau 1:1 (v/v), T<sub>4</sub> = solo + composto da casca de cacau 1/3 +2/3 (v/v).

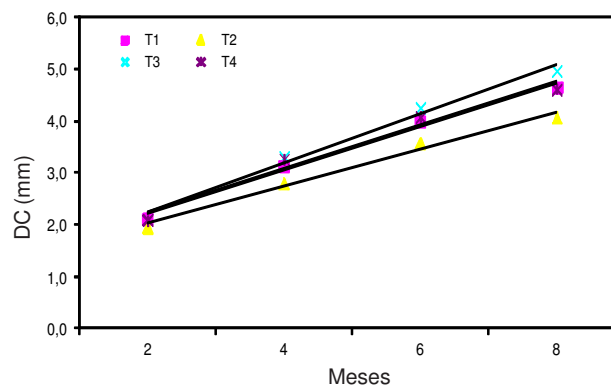


Figura 2. Evolução do diâmetro a altura do coleto (DC), de mudas de *Caesalpinia echinata*, em função dos diferentes substratos ao longo de oito meses. T<sub>1</sub> = solo, T<sub>2</sub> = composto da casca de cacau, T<sub>3</sub> = solo + composto da casca de cacau 1:1 (v/v), T<sub>4</sub> = solo + composto da casca de cacau 1/3 +2/3 (v/v).

Tabela 2. P-Valor dos testes de Inclinação das Retas (IR), do Intercepto (I) e da Identidade dos Modelos (IM) para a variável altura da planta (AP) e diâmetro a altura do coleto (DC), de mudas de *Caesalpinia echinata*, em função dos diferentes substratos, ao longo de oito meses

Tratamentos <sup>1</sup>	Altura da planta			Diâmetro à altura do coleto		
	IR	I	IM	IR	I	IM
1 - 2	0,0401	0,4934	0,0069	0,1790	0,8707	0,0352
1 - 3	0,3545	0,9622	0,0970	0,3842	0,8707	0,2294
1 - 4	0,6183	0,5837	0,8523	0,7223	0,6277	0,8610
2 - 3	0,0089	0,5225	0,0004	0,0436	0,7454	0,0030
2 - 4	0,0897	0,8869	0,0073	0,3014	0,7454	0,0253
3 - 4	0,1718	0,6158	0,8323	0,2335	0,5203	0,8610

<sup>1</sup>T<sub>1</sub> = solo; T<sub>2</sub> = composto da casca de cacau; T<sub>3</sub> = solo + composto da casca de cacau 1:1 (v/v); T<sub>4</sub> = solo + composto da casca de cacau 1/3 +2/3 (v/v).

Tabela 3. Área foliar (AF), matéria seca de folha (MSF), matéria seca de caule (MSC), matéria seca de raiz (MSR) e matéria seca de total (MST), encontradas em mudas de *Caesalpinia echinata* crescendo em diferentes substratos

Tratamentos <sup>1</sup>	AF	MSF	MSC	MSR	MST
	cm <sup>2</sup>	g			
T1	500,19 A	2,64 A	1,32 A	0,39 A	4,34 A
T2	247,04 B	1,28 B	0,63 B	0,20 B	2,10 B
T3	631,35 A	3,39 A	1,67 A	0,51 A	5,57 A
T4	491,05 A	2,67 A	1,28 A	0,40 A	4,35 A
CV (%)	27,41	27,14	28,06	34,09	27,06

T<sub>1</sub> = solo; T<sub>2</sub> = composto da casca de cacau; T<sub>3</sub> = solo + composto da casca de cacau 1:1 (v/v); T<sub>4</sub> = solo + composto da casca de cacau 1/3 +2/3 (v/v).

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 4. Teores de macronutrientes encontrados em folhas de mudas de *Caesalpinia echinata* crescendo em solo e em composto da casca de cacau (CCC)

Folha	Macronutrientes									
	N		P		K		Ca		Mg	
	Solo	CCC	Solo	CCC	Solo	CCC	Solo	CCC	Solo	CCC
	g kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>	
Apical	30,8Ba	36,2Aa	2,3Ba	6,1Ab	18,8Aa	20,4Aa	11,0Ab	14,8Ab	1,8Bb	2,4Ab
Basal	22,7Ab	23,9Ab	1,4Ba	9,9Aa	10,1Bb	13,7Ab	26,8Aa	29,2Aa	2,7Aa	3,0Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 5 Teores de micronutrientes encontrados em folhas de mudas de *Caesalpinia echinata*, crescendo em solo e em composto da casca de cacau (CCC)

Folha	Micronutrientes							
	Fe		Zn		Cu		Mn	
	Solo	CCC	Solo	CCC	Solo	CCC	Solo	CCC
	mg kg <sup>-1</sup>		mg kg <sup>-1</sup>		mg kg <sup>-1</sup>		mg kg <sup>-1</sup>	
Apical	216,5Ab	254,8Aa	45,9Bb	66,6Aa	23,3Aa	21,8Aa	50,0Ab	59,8Aa
Basal	371,4Aa	302,5Aa	61,3Aa	74,5Aa	24,1Aa	22,1Aa	80,9Aa	75,0Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

*echinata* com redução da proporção de CCC e isso sugere que, nas misturas, devem ser utilizadas menores proporções de CCC (Figuras 1 e 2; Tabela 3). Percebe-se claramente a dinâmica do processo de retranslocação de nutrientes em função da sua mobilidade no floema (Tabela 4), com exceção do P, disponibilizado em grande proporção no CCC, sendo observados teores foliares mais elevados de P em *C. echinata* quando comparados com os resultados disponibilizados, a maioria das plantas (Taiz e Zeiger, 2004). Merece destaque o fato da relação Ca:Mg na folha permanecer praticamente inalterada nos diferentes substratos, aproximadamente de seis e 10 vezes, nas folhas apicais e basais, respectivamente (Tabela 4), isso se deve, provavelmente, a forte regulação das concentrações de Ca no tecido vegetal por Taiz e Zeiger (2004).

Detecta-se que o substrato solo + composto de casca de cacau (tratamento T<sub>3</sub>), apesar de não apresentar diferença significativa, mostrou uma tendência de melhor comportamento das variáveis analisadas. Por outro lado, outros fatores podem estar influenciando o comportamento da mudas de *C. echinata* nos diferentes substratos. Roweder et al. (2012) estudando o uso de

diferentes substratos e ambiências na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de *Cedrela odorata* (cedro rosa), concluíram que o húmus de minhoca favoreceu o desenvolvimento das plântulas independentemente do ambiente, já o substrato casca de coco não favorece o desenvolvimento das plântulas em ambientes com 50% e 0% de sombra. Desse modo, pesquisas podem ser desenvolvidas com o objetivo de testar o substrato solo + composto da casca de cacau utilizando variações na incidência de luz.

## Conclusões

O crescimento de mudas de pau-brasil foi maior em solo com boa fertilidade e na mistura solo + composto da casca de cacau. A mistura solo + composto da casca de cacau mostrou uma tendência de melhor comportamento.

O substrato composto da casca de cacau não deve ser usado, de forma isolada, na produção de mudas de *Caesalpinia echinata*.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Edmundo Dias de Andrade pela dedicação na condução dos ensaios de campo e, a Lindolfo Pereira dos Santos Filho pela valiosa contribuição nas análises estatísticas.

## Literatura Citada

- BARROS, N. F. de; STRINGHETA, A. C. O. 1999. Plantas ornamentais arbóreas e arbustivas. In: Ribeiro, A.C.; Guimarães, P.T.G.; Alvarez, V., V.H. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª Aproximação. Viçosa, MG, CFSEMG. p.273-276.
- BRAGA, J. M.; DEFELIPO, B. 1974. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. *Revista Ceres* 21:73-85.
- CEPLAC. Programa pau-brasil, Ilhéus: Ceplac, 2004. Disponível em: <http://www.arvorenacional.com.br>. Acesso em 14 de junho de 2012.
- CURVELO, K.; LOBÃO, D. E.; MARROCOS, P.; VALE, R. R. 2008. Manual técnico: plantio e manejo de pau-brasil. CEPLAC - Programa Pau-brasil, Ilhéus, BA. 26p.
- FREIRE, E.S.; SANTOS FILHO, L.P. dos. 1989. Procedimento estatístico para comparação de modelos lineares. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. 20p.
- GOMES, J. M. et al. 1991. Efeitos de diferentes substratos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden, em Win-Strip. *Revista Árvore* 15(1):35-41.
- GONÇALVES, J. L. M.; POGGIANE, F. 1996. Substrato para produção de mudas. In: Congresso Latino Americano de Ciências do solo, Águas de Lindóia, 1996. Anais. Águas de Lindóia, SBSCS. CD-ROM.
- JACKSON, M. L. Nitrogen determinations for soil and plant tissue. 1958. In: Soil chemical analysis. Englewood Chiffis: Prentice-Hall. pp.183-204.
- LOBÃO, D. E. V. P. 2007. Agroecossistema Cacaueiro da Bahia: cacau-cabruca e fragmentos florestais na conservação de espécies arbóreas. Tese Doutorado. Jaboticabal, UNESP. 98p.
- OLIVEIRA, R. B. et al. 2008. Produção de mudas de essências florestais em diferentes substratos e acompanhamento do desenvolvimento em campo. *Revista Ciência Agrotécnica* 32(1):122-128.
- ROWEDER, C.; NASCIMENTO, M. de S.; SILVA, J. da B. 2012. Uso de diferentes substratos e ambiência na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de cedro. *Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias* 5(1):27-46.
- SAS Institute INC. 1982. SAS User's Guide: statistics, 1982 ed. Cary, NC, SAS Institute INC. 584p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2004. Fisiologia vegetal. 3 ed. Porto Alegre, Artmed. PPI. 719p.
- TOLEDO, A. R. M. 1992. Efeito de substratos na formação de mudas de laranjeira (*Citrus sinensis*) em vaso. Dissertação Mestrado. Lavras, UFLA. 88p.

## DETECTION OF *Salmonella* IN CAPTIVE SNAKES BY TRADITIONAL ISOLATION AND SPECIFIC PCR

*Lizziane da Silva Argôlo*<sup>1</sup>, *Bianca Mendes Maciel*<sup>2</sup>, *Ronaldo Costa Argôlo Filho*<sup>2</sup>, *Rachel Passos Rezende*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Itapetinga, Bahia, Brazil; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, Brazil. ronaldoadargolo@yahoo.com.br

The snakes constitute a group of reptiles used in different purposes, as pets, adornment, in the human feeding, skin exploitation and researches. The salmonellosis is an enteric illness of variable severity in humans and animals, with high morbidity and economic impact. The aim of this study were to estimate the prevalence of *Salmonella* spp. in captive snakes using the standard microbiological method and variations of Polymerase Chain Reaction (PCR). Thirty one fecal samples from snakes maintained in captivity in the Laboratory of Vertebrate Zoology of State University of Santa Cruz and in Serpentarium of the Executive Commission of Cocoa Crop Plan (CEPLAC) in Ilhéus/BA were collected. The samples were analyzed with traditional procedures for the prevalence of *Salmonella* spp. and molecular method using specific primers ST11 and ST15. Through PCR, using three types of samplings, (i) direct bacterial pool, (ii) enriched pool in peptone water buffered and (iii) amplification of the pure culture, were considered positive 55% in the direct bacterial pool, 65% in the enriched pool in peptone water buffered and 100% in the bacterial pure culture DNA. Using the standard method of isolating 58% were positive, being 39 *Salmonella* strains isolated.

**Key words:** Salmonellosis, reptile, microbial diagnosis, PCR.

**Detecção de *Salmonella* em serpentes de cativeiro por isolamento tradicional e PCR específico.** As serpentes constituem um grupo de répteis usado para diferentes finalidades, como animais de estimação, na alimentação humana, na exploração da pele e em pesquisas diversas. A salmonelose é uma doença entérica de gravidade variável nos seres humanos e animais, com alta morbidade e impacto econômico. O objetivo deste estudo foi estimar a prevalência de *Salmonella* spp. em serpentes cativas utilizando o diagnóstico microbiológico tradicional e variações da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Foram coletadas trinta e uma amostras fecais de serpentes mantidas em cativeiro no Laboratório de Zoologia da Universidade Estadual de Santa Cruz e Serpentário da Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira (CEPLAC), em Ilhéus/BA. As amostras foram analisadas com procedimentos tradicionais para a prevalência de *Salmonella* spp. e foram confirmados por métodos moleculares utilizando-se os primers específicos ST11 e ST15. Para a realização da PCR foram utilizadas três tipos de amostragem: (i) amostra direta, (ii) amostra enriquecida em água peptonada tamponada e (iii) amostra da cultura pura. Foram considerados positivos para *Salmonella* spp. 55% na amostra direta, 65% no pool enriquecido em água peptonada tamponada e 100% nas amostras de cultura pura. A partir do isolamento tradicional 58% das amostras analisadas foram positivas, sendo isoladas 39 cepas de *Salmonella* spp.

**Palavras-chave:** Salmonelose, répteis, diagnóstico microbiológico, PCR.

## Introduction

Cold-blooded animals harbor a wide variety of *Salmonella* serotypes in their gastrointestinal tracts, even simultaneously (Woodward et al., 1997; Burnham et al., 1998; Willis et al., 2002), being well-known as non-symptomatic carriers of *Salmonella* spp. (Chiodini, 1982; Ramsay et al., 2002). Over 90% of free-living as well as domesticated reptiles have been shown to be reservoirs of *Salmonella* and shed it in their feces (Chiodini & Sundberg, 1981; Woodward et al., 1997; Willis et al., 2002; Burnham et al., 1998), with different serotypes can be isolated from a single reptile (Ward, 2000). Researches indicate that *Salmonella* in reptiles is more virulent and invasive to humans than strains carried by others host (Scott & Foster, 1997; Mermin et al., 1997). However, it is still unclear whether the snakes become colonized by contaminated food or whether transmission occurs during pregnancy, birth and/or contact. Schröter et al. (2006), reported vertical transmission between captive newborn snakes fed with mice *Salmonella*-free, showing that just food is not the only factor for transmission of *Salmonella* in reptiles.

It is known there is a high proportion of reptiles carrying *Salmonella* spp. in the enteric tract without clinical manifestation and that elimination can be either continuous or intermittent (Chiodini & Sundberg, 1981; CDC, 1995; Scott & Foster, 1997; Geue & Löschner, 2002; Corrente et al., 2004). In some cases, the infection results in an invasive disease, septicemia and meningitis (CDC, 1995), but there are relatively few reports of these bacteria causing disease in reptiles (Ramsay et al. 2002; Chiodini, 1982). For this reason, it becomes a risk to the people who use the these animals as protein source in their diet or exotic pets (Ackman et al., 1995; Mermin et al., 1997; CDC, 1999; Vasconcellos, 2001).

The current standard laboratory procedure to *Salmonella* culture and identification is laborious and can last up to 7 days (Flowers et al., 1992). The Polymerase Chain Reaction (PCR) represents a major advance in terms of the speed, sensitivity and specificity, and has been increasingly used to identify several bacterial species from clinical and environmental samples (Aabo, et al. 1993; Lantz et al., 1994). The main obstacle to using PCR for the detection and

identification of pathogenic organisms from clinical samples is the presence of substances that are inhibitory to PCR (Lantz et al., 1994; Stone et al., 1994). In addition, a number of molecular typing methods have also been used to try improve the identification of *Salmonella* and also to differentiate strains to the level of serotypes (Nair et al., 2002).

In this context, the aim of this study was to estimate the prevalence of *Salmonella* spp. in captive snakes through traditional isolation and molecular methods (specific PCR).

## Materials and Methods

The species of snakes tested are listed in Table 1. Twenty-seven samples were collected from animals kept in Serpentarium of Executive Commission of Cocoa Crop Plan - CEPLAC (Ilhéus-BA-Brazil) and four samples for animals of Vertebrates Zoology Laboratory of State University of Santa Cruz (Ilhéus-BA-Brazil). All the snakes were healthy and they were tested by using sterile cloacal swabs. The samples were sent immediately to the laboratory and kept at 6°C.

The samples were examined for the presence of *Salmonella* according to APHA (Flowers et al., 1992) with some modifications. Each swab was inoculated into 2 mL of buffered peptone water (BPW; Merck) and incubated at 37°C for 24 h. One milliliter of this culture was transferred to 9 mL of Tetrathionate broth (TTB; Merck) and into 9 mL of Selenite-Cistine broth (SCB; Merck), and incubated at 43°C for 24 h. Two differential media were used, Xylose-Tergitol-4 agar (XLT4; Merck) and *Salmonella-Shigella* agar (SS, Merck), with incubation 43°C for 24 h. Five colonies with typical properties of *Salmonella*, as indicated by supplier's instructions, were selected from each plate and tested using a biochemical methods (TSI, LIA, MR, Urease and SIM) according APHA (Flowers et al., 1992). Positive samples grown in Trypticate Soy agar (TSA; Merck) and were sent to the Enterobacteria Laboratory of Fundação Oswaldo Cruz, Rio Janeiro-RJ-Brazil for specific identification using serogroup-specific antisera.

For molecular analysis, the cloacal swabs, after incubation in BPW, were streaked way in Petri dishes containing TSA and incubated at 37°C for 24 h. Then,



Table 1. Snakes used in the experiments and *Salmonella* serotypes found by standard microbiological method

Snake specie	<i>Salmonella</i> serotype
<i>Bothrops jararacussu</i>	-
<i>Bothrops jararacussu</i>	-
<i>Bothrops jararaca</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O11:r:-)
<i>Bothrops leucurus</i>	-
<i>Bothrops leucurus</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Bothrops leucurus</i>	<i>Salmonella</i> Newport
<i>Bothrops leucurus</i>	-
<i>Bothrops leucurus</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Bothrops leucurus</i>	<i>Salmonella</i> Newport
<i>Bothrops leucurus</i> <sup>a</sup>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-); <i>Salmonella</i> Newport; <i>Salmonella</i> Gaminara
<i>Bothrops leucurus</i>	-
<i>Bothrops leucurus</i>	<i>Salmonella</i> Newport
<i>Bothrops pirajai</i> <sup>b</sup>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5); <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Bothrops bilineatus</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Bothrops bilineatus</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (O61:c:1,5)
<i>Corallus hortulans</i>	-
<i>Crotalus durissus</i>	<i>Salmonella</i> Gaminara
<i>Crotalus durissus</i>	-
<i>Epicrates cenchria hygrophilus</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Epicrates cenchria hygrophilus</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (O:47)
<i>Epicrates cenchria hygrophilus</i>	-
<i>Epicrates cenchria hygrophilus</i>	-
<i>Lachesis muta rhombeata</i> <sup>b</sup>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-); <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5)
<i>Lachesis muta rhombeata</i> <sup>b</sup>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-); <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5)
<i>Lachesis muta</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Lachesis muta</i>	-
<i>Lachesis muta</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Lachesis muta</i>	-
<i>Lachesis muta</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (O4,5:b:-)
<i>Lachesis muta</i>	-
<i>Spilotes pullatus</i>	-

<sup>a</sup> One animal was carrier of three serovars: *S. enterica* subsp. *enterica* (O4,5:b:-); *S. Newport* and *S. Gaminara*.

<sup>b</sup> Three animals were carriers of two serovars: *S. enterica* subsp. *enterica* (O4,5:b:-); *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (O4,5).

were added 3 mL of Phosphate Buffered Saline (PBS; pH 7.2) to promote the bacteria solubilization. Tree samples were taken from this procedure. *Bacterial pool*: 200 ì L were pipetted from bacterial suspension in 1.5-mL microtubes. This sample was centrifugated at 7000 x g for 3 min and the pellet washed by adding 200 ì L of sterile Milli-Q® water, shaken vigorously and centrifugated at 7000 x g for 3 min. The supernatant was discarded and this procedure was repeated twice. In the last step, the samples were placed in boiling water for 5 min to bacterial lyses. *Enrichment with BPW*: 100 ì L from bacterial pool were inoculated in 10-mL tubes containing 2 mL of BPW and incubated at 37°C for 24h. After this period, 1.5 mL was

transferred to 2-mL microtubes and centrifuged at 7000 x g for 200 seconds, the supernatant was discarded and were added 200 ì L of sterile Milli-Q® water, this procedure was repeated twice. In the last step, the samples were placed in boiling water for 5 min to bacterial lyses. *Pure culture*: 100 ì L of pure cultures of *Salmonella* from positive snakes in traditional isolation were inoculated into 10-mL tubes containing 2 mL of TSB. The cultures were incubated at 37°C and 180 rpm for 24 h. After this period, 1.5 mL were transferred to 2-mL microtubes and centrifuged at 7000 x g for 3 min and the pellet was washed by adding 200 ì L of sterile Milli-Q® water, shaken vigorously and centrifugated at 7000 x g for 3 min. The supernatant

was discarded and this procedure was repeated twice. In the last step, the samples were placed in boiling water for 5 min to bacterial lyses.

Four microliters of the each lysate sample was transferred to a PCR tube containing 46 µL of a mixture of 35.25 µL sterile Milli-Q® water, 10 mM *Taq* polymerase buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 pmol each primer, 200 µM each dNTP, 1.25 U *Taq* polymerase. Table 2 shows the sequence of primers and PCR conditions. PCR products were electrophoresed on a 1% (w/v) agarose gel in 1X Tris/Acetate/ EDTA (TAE) buffer at 100 V for 30 min and stained with ethidium bromide (0.5 µg mL<sup>-1</sup>). The amplified products were visualized under UV illumination.

## Results and Discussion

Sa & Solari (2001) confirmed the presence of *Salmonella* spp. in fecal samples from 97 pet reptiles in Brazil. Snakes reached the second place in this survey with 53.3% of prevalence, demonstrating its epidemiologic importance. In the present study by using the standard microbiological method, *Salmonella* spp. was detected in 58.07% of the analyzed snakes. This result was similar to Sa & Solari (2001). However, we must keep in mind that negative animals at our diagnosis can be within the group in which *Salmonella* elimination is intermittent, did not releasing in their feces, as shown by Burnham et al. (1998) and Argôlo Filho (2007).

Serotyping is an important epidemiological tool for assessing the prevalence of certain strains and assist in a possible salmonellosis control program. A total of seven different serotypes of *Salmonella* were found

among 39 strains of the 18 positive snakes, of which 42% represent *Salmonella enterica* (O4.5:b:-); 26% *S. Newport*, 13% *S. enterica* (O4.5); 8% *S. houtenae* (O61:c:1.5); 5% *S. Gaminara* and 3% *S. diarizonae* (O47) and *S. enterica* (O11:r:-) (Figure 1). In Table 1 these serotypes are listed according to snake species studied. Sa & Solari (2001), who studied the prevalence of *Salmonella* in reptiles imported into Brazil, also found three subspecies found in this study, *S. enterica*, *S. houtenae* and *S. diarizonae*. It was observed that three animals had more than one serotype simultaneously (Table 1), this is in agreement with those results obtained by Corrente et al. (2004) and Argôlo Filho (2007). Most of the isolates that are zoonotic belong to *S. enterica* subsp. *enterica*. The others subspecies are potentially virulent and are occasionally associated with human infection. *S. Newport* was the third most common serovar of human salmonellosis in the U.S. (The Center..., 2005) *S. Gaminara* has also been associated to human salmonellosis outbreaks (Kim et al., 1998). These reports emphasize the risk in manipulate or keep snakes without proper care.

Three types of sampling (*Bacterial pool*, *Enrichment with BPW* and *Pure culture*) were analyzed by use specific primers (ST11 and ST15). The PCR amplification resulted in products of 429 bp (Figure 1). Aabo et al. (1993) found that this primers can be used successfully for *Salmonella* identification and no false-positive reaction was observed. The PCR with samples from “*Bacterial pool*” obtained 54.84% of positive *Salmonella*, result quite similar to that observed with the traditional method. However, the results from the “*Enrichment with BPW*” shown positivity of 64.52%, 10% more than previous results, suggesting an increase in the sensitivity of the diagnosis. Considering all tests,

Table 2. Sequence of ST11 and ST15 primers and PCR conditions (Aabo et al., 1993)

Primer	Sequence (5'-3')	PCR conditions	
		Size (bp)	Cycles
ST11	AGCCAACCATGCTAAATTGGCGCA	429	1 cycle - 5 min - 94°C
			30 cycles { 1 min - 94°C 2 min - 60°C 1 min - 72°C
ST15	GGTAGAAATTCAGCGGTACTG		1 cycle - 10 min - 72°C

a total of 87.1% of all serpents were positive, reaching close to the results obtained by Schröter et al. (2006). The primers demonstrated its efficiency to detect 100% of *Salmonella* from pure cultures (Figure 2).

The PCR has been demonstrated to be more sensitive than standard isolation technique (Aabo et al., 1993; Lantz et al., 1994; Oliveira et al., 2002; Sibley et al., 2003). However, eight samples that were positive in standard microbiological test became negative in PCR

from the *Bacterial pool* and tree positive samples in *Bacterial pool* became negative after the *Enrichment step* (Figure 2). A probable reason for this is some failure in DNA extraction or amplification is the presence of impurities that inhibited the PCR. It has been attempted to diagnose *Salmonella* directly from faeces without any cultivation step. However, there was great difficulty in getting a quality DNA for use in PCR (data not shown). Probably the presence of heterogeneous

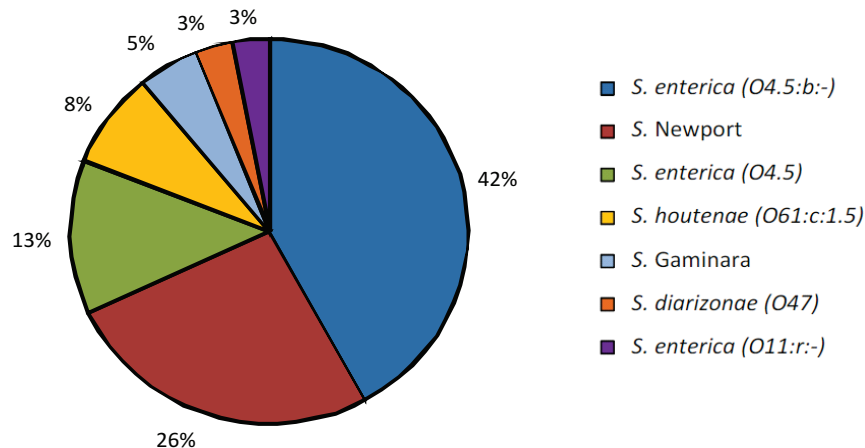


Figure 1 Percentages of *Salmonella* serotypes isolated from 18 positive snakes by standard microbiological method.

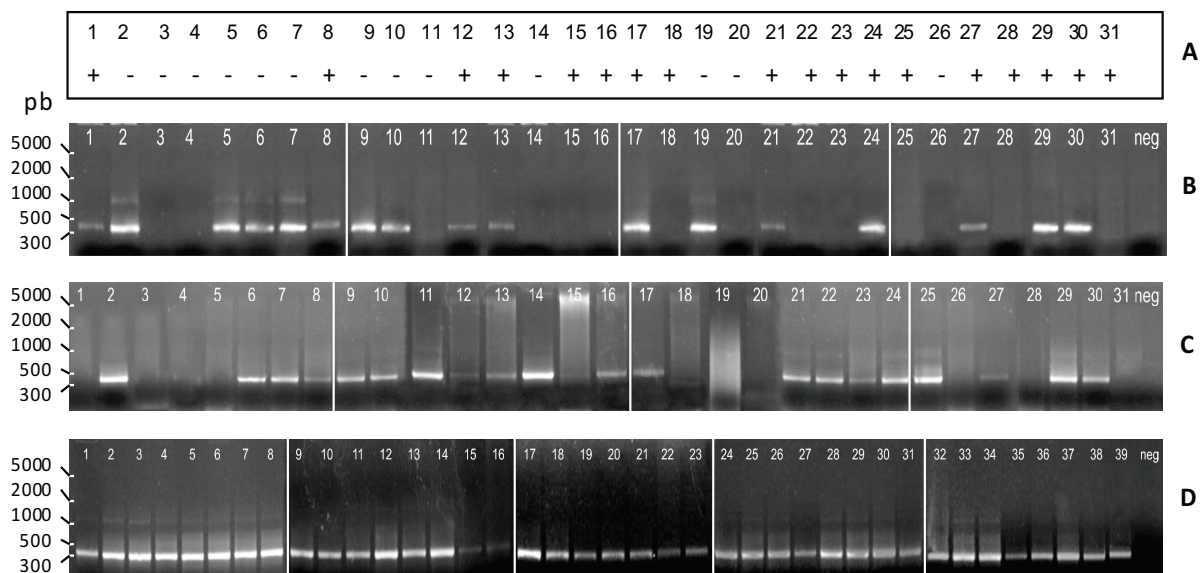


Figure 2. Detection of *Salmonella* by PCR using specific primers (ST11 - ST15) resulting in products of 429 bp. neg: negative control. (A) The results of standard microbiological method is defined as positive (+) and negative (-) to *Salmonella*. The presence of the band in PCR represents positive samples: (B) samples from Bacterial pool; (C) samples from Enrichment with BPW; (D) samples from Pure culture (the sample numbers of D do not coincide with A, B and C).

substances aggregated to fecal samples interfered in the processing of the sample as the result of DNA extraction (Fungaro, 2000). Diagnosis through the enrichment and subsequent PCR analysis did not show the same difficulties. The results showed that when promoting a pre-enrichment technique is more skilled to detect the presence of *Salmonella* in samples (Oste, 1988; Rahn et al. 1992; Aabo et al. 1993; Lantz et al. 1994; Oliveira et al. 2002; Agarwal et al. 2002; Sibley et al., 2003). Agarwal et al. (2002) propose that the ideal time for pre-enrichment is 6h in food. They noted that, despite the great sensitivity of PCR, without prior enrichment of the samples was not possible to detect *Salmonella*. In PCR there was no preferential amplification of one serotype in particular between those observed in this study. However, the development of a method for efficiently extracting DNA directly from fecal samples without enrichment is required for the diagnosis and monitoring of populations of pathogenic microorganisms and the celerity of animal treatment in hospitals and clinics, thus improving the prognosis.

### Conclusions

The salmonellosis in reptile, especially in snakes, represents a important source of human illness and need prevention and control programs. In present study, 87.1% of all snakes were positive to *Salmonella*. PCR using specific primers ST11 and ST15 shown to be an effective and rapid method for the diagnosis of salmonellosis, although serotype does not become known by using these pair of primers. The use of enriched sample in buffered peptone water seems to be more effective than direct use of the fecal sample as DNA template in PCR, possibly due to greater selection and growth of bacterial cells. Due to the few studies conducted in Brazil on salmonellosis in reptiles, other works on this subject are of great importance, especially in molecular biology to carry out control programs more effective.

### Aknowledgments

The authors wish to thank State of Santa Cruz University and CEPLAC for the financial support and

for granting the use of animals. We special thank Eliana Falavina Reis (FIOCRUZ-RJ) for *Salmonella* serotyping.

### Literature Cited

- AABO, S. et al. 1993. *Salmonella* identification by the polymerase chain reaction. Molecular and Cellular Probes 7:171-178.
- ACKMAN, D. M. et al. 1995. Reptile-associated salmonellosis in New York State. Pediatric Infectious Disease Journal 14:955-959.
- AGARWAL, A.; MAKKER, A.; GOEL, S. K. 2002. Application of the PCR technique for a rapid, specific and sensitive of *Salmonella* spp. in foods. Molecular and Cellular Probes 16:243-250.
- ARGÔLO FILHO, R. C. 2007. Identificação, sorotipagem e diferenciação pela PCR-DGGE de sorotipos de *Salmonella* isolados de teiús criados em cativeiro. Tese de Mestrado (Thesis-Magister Scientiae). Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-Brazil. 107p.
- BURNHAM, B .R. et al. 1998. Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* organisms among captive green iguanas and potential public health implications. Journal of the American Veterinary Medical Association 213:48-50.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). 1995. Reptile-associated salmonellosis-selected states, 1994-1995. Morbidity Mortality Weekly, 44: 347-350.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). 1999. Reptile-associated salmonellosis - selected states, 1996-1998. Morbidity and Mortality Weekly 48: 1009-1013.
- CHIODINI, R.J.; SUNDBERG, J.P. 1981. Salmonellosis in reptiles: a review. American Journal Epidemiology 113:449-499.
- CHIODINI, R.J. 1982. Transovarian passage, visceral distribution, and pathogenicity of *Salmonella* in snakes. Infection and Immunity 36:710-713.



- CORRENTE, M. et al. 2004. Isolation of *Salmonella* strains from reptile faeces and comparison of different culture media. *Journal Applied Microbiology* 96:709-715.
- FLOWERS, R. S. et al. 1992. *Salmonella*. In: Vanderzant, C.; Splittstoesser, D. F. Compendium of methods for microbiological examinations of foods. 3 ed. Washington, American Public Health Association 371-422.
- FUNGARO, M. H. P. 2000. PCR na micologia. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento* 3:12-16.
- GEUE, L.; LÖSCHNER, U. 2002. *Salmonella enterica* in reptiles of German and Austrian origin. *Veterinary Microbiology* 84:79-91.
- KIM, A. et al. 1998. Outbreak of *Salmonella* serotype Hartford infections associated with unpasteurized orange juice. *Journal of the American Medical Association* 280:1504-1509.
- LANTZ, P. G.; HAHN-HIGERDAL, B.; RADSTRÖM, P. 1994. Sample preparation methods in PCR-based detection of food pathogens. *Trends in Food Science & Technology* 5: 384-389.
- MERMIN, J.; HOAR, B.; ANGULO, F.J. 1997. Iguanans and *Salmonella marina* infection in children: a reflection of the increasing incidence of reptile-associated salmonellosis in the United States. *Pediatrics* 99: 399-402.
- NAIR, S. et al. 2002. Characterization of *Salmonella* serovars by PCR-Single-Strand conformation polymorphism analysis. *Journal Clinical Microbiology* 40: 2346-2351.
- OLIVEIRA, S.D. et al. 2002. Detection and identification of *Salmonellas* from poultry-related samples by PCR. *Veterinary Microbiology* 87: 25-35.
- OSTE, C. 1988. Product application focus: polymerase chain reaction. *BioTechnology* 6:162-167.
- RAHN, K. et al. 1992. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of detection of *Salmonella*. *Molecular and Cellular Probes* 6:271-279.
- RAMSAY, E. C. et al. 2002. Osteomyelitis associated with *Salmonella enterica* SS arizonae in a colony of ridgenose rattlesnakes (*Crotallus willardi*). *Journal of Zoo. Wildlife Medicine* 33: 301-310.
- SÁ, I. V. A.; SOLARI, C. A. 2001. *Salmonella* in brazilian and imported pet reptiles. *Brazilian Journal Microbiology* 32:293-297.
- SCHRÖTER, M. et al. 2006. Analysis of the transmission of *Salmonella* spp. through generations of pet snakes. *Environmental Microbiology* 8:556-559.
- SCOTT, T.; FOSTER, B. G. 1997. *Salmonella* spp. in free-ranging and farmed alligators (*Alligator mississippiensis*) from Texas and Louisiana, U.S.A. *Aquaculture* 156:179-181.
- SIBLEY, J. et al. 2003. Comparison of bacterial enriched-broth culture, enzyme linked immunosorbent assay, and broth culture-polymerase chain reaction techniques for identifying asymptomatic infections with *Salmonella* in swine. *Canadian Journal of Veterinary Research* 67:219-224.
- STONE, G. G. et al. 1994. Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. *Journal Clinical Microbiology* 32: 1742-1749.
- THE CENTER OF FOOD SECURITY & PUBLIC HEALTH. 2005. Salmonellosis: Paratyphoid, Non-typhoidal Salmonellosis. Iowa State University. 8p.
- VASCONCELLOS, S. A. 2001. Zoonoses e saúde pública: riscos causados por animais exóticos. *Biológico* 63: 63-65.
- WARD, L. 2000. *Salmonella* perils of pet reptiles. *Commun. Disease Public Health* 3:2-3.
- WILLIS, C. et al. 2002. Pet reptiles associated with a case of salmonellosis in an infant were carrying multiple strains of *Salmonella*. *Journal Clinical Microbiology* 40: 4802-4803.



WOODWARD, D. L.; KHAKHRIA, R.; JOHNSON, W. M. 1997. Human salmonellosis associated

with exotic pets. *Journal Clinical Microbiology* 35:2786-2790.



## FUNGOS ENDÓFITOS EM PLANTAS ORNAMENTAIS TROPICAIS NA BAHIA

**Kaliúsia S. Cerqueira<sup>1</sup>, Edna Dora M. N. Luz<sup>2</sup>, Dilze Maria A. Magalhães<sup>2</sup>, José Luiz Bezerra<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz, km 16, Rod Ilhéus - Itabuna, 45662-900, Ilhéus, Bahia, Brasil.  
kaliusia@hotmail.com; <sup>2</sup>Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - Centro de Pesquisa do Cacau - km 22, Rod  
Ilhéus - Itabuna, Cx. Postal 7, 45670-900, Ilhéus, Bahia, Brasil. ednadora@cepec.gov.br.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências, Agrárias e Biológicas, Rua Rui Barbosa, 710 -  
Centro, CEP 44380-000 - Cruz das Almas, Bahia, Brasil. zelulabezerra@yahoo.com.br.

Os fungos endófitos estão associados com centenas de espécies vegetais, colonizando os espaços intercelulares e vasos do xilema sem provocar sintomas de doença. Visando estudar os fungos endófitos de plantas ornamentais do Sul da Bahia nove coletas sucessivas foram realizadas em três áreas selecionadas nos municípios de Ilhéus, Una e Uruçuca. Após os isolamentos foram identificados em 21 hospedeiros, 26 espécies de fungos pertencentes a 19 gêneros com destaque para *Colletotrichum gloeosporioides*, *Acremonium* sp. e *Glomerella cingulata*. Dois isolados de cada espécie foram depositados na micoteca do laboratório de diversidade de fungos do Centro de Pesquisas do Cacau. As espécies *Acremonium* sp. e *Glomerella cingulata* apresentaram índices máximos de frequência, dominância, abundância e constância. A maior frequência de colonização por fungos ocorreu em *Heliconia bihai*.

**Palavras-chave:** Endofitismo, micodiversidade, micobiota brasileira.

**Endophytic fungi in ornamental tropical plants in Bahia, Brazil.** Endophytic fungi are associated with hundreds of plant species colonizing intercellular spaces and xylem vessels without provoking disease symptoms. Aiming to study the endophytic fungi of ornamental plants in Southern Bahia, nine successively collectings were done in three selected areas of Ilhéus, Una and Uruçuca municipalities. Nineteen genera and 26 fungal species were identified in 21 host plants with the predomination of *Colletotrichum gloeosporioides*, *Acremonium* sp. and *Glomerella cingulata*. Two isolates of each fungal species were deposited in the cultural collection of the fungal diversity laboratory of Cacao Research Center, Bahia, Brazil. *Acremonium* sp. and *Glomerella cingulata* presented highest rates of frequency, dominance, abundance and constancy. The highest colonization rate by fungi occurred in *Heliconia bihai*.

**Key words:** Endophytism, mycodiversity, Brazilian mycota

## Introdução

As plantas ornamentais tropicais cultivadas no Brasil incluem espécies nativas e exóticas das famílias Heliconiaceae, Musaceae e Zingiberaceae. O cultivo de flores ornamentais tropicais no Estado da Bahia tem crescido muito nos últimos tempos. No sul da Bahia o cultivo tornou-se uma das opções para a ocupação produtiva da região cacaujeira no intuito de complementar o rendimento dos cacauicultores, devido à queda da produção em decorrência da doença vassoura-de-bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Esta atividade é favorecida pelo clima e pela ocorrência natural de algumas espécies das famílias Heliconiaceae e Musaceae nos remanescentes de Mata Atlântica com potencial para cruzamentos genéticos visando à descoberta de novos híbridos de valor comercial. Entre as espécies mais cultivadas destacam-se a alpínia (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum.) e as helicônias (*Heliconia* spp.) que vem se tornando uma excelente opção no sistema de consórcio ou de Sistemas Agroflorestais (SAFs) com o cacau, gerando emprego, renda e divisas economicamente importantes.

Os fungos endófitos estão associados com inúmeras espécies vegetais (Bacon e Hinton, 2002). Esses organismos podem viver em raízes, ramos, folhas, sementes, frutos, tubérculos e flores, colonizando os espaços intercelulares e vasos do xilema (Mundt e Hinkle, 1976; Hallmann et al., 1997; Sturz et al., 1999; Garbeva et al., 2001) desempenhando variadas e estreitas relações ecológicas com seus hospedeiros sem provocar sintomas de doença. Devido a este fato é necessário isolar e cultivar esses fungos em laboratório (Araújo et al., 2002). Muitas substâncias bioativas podem ser produzidas por estes microrganismos, porém a exata relação física e bioquímica entre os endófitos e a planta permanece obscura (Strobel, 2003). Há escassos relatos de trabalhos realizados na região Sul da Bahia sobre fungos endófitos. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo estudar a diversidade das espécies fúngicas endófitas presentes em plantas ornamentais tropicais na região sul da Bahia em relação aos locais de coleta e período do ano.

## Material e Métodos

Durante o período de outubro/2009 a julho/2010, foram realizadas nove coletas, em três propriedades rurais, da área de abrangência da Mata Atlântica, situadas nos municípios de Ilhéus (Sítio Ilha Flora), Una (Fazenda Bela Vista) e Uruçuca (Fazenda Liberdade).

Em cada propriedade coletou-se partes aéreas e subterrâneas de plantas ornamentais tropicais, assintomáticas. O material coletado foi acondicionado em sacos de papel, devidamente etiquetados e transportados para o Laboratório de Biodiversidade de Fungos do CEPEC/CEPLAC, onde se processou o isolamento das amostras, no tempo máximo de 24 horas.

O material foi cuidadosamente lavado com água corrente e sabão neutro e, discos de 0,5 cm de diâmetro (folhas) ou fragmentos com aproximadamente 0,2 x 0,2cm (inflorescência, caule, raiz) de cada amostra foram desinfestados superficialmente segundo Dobranic et al. (1995).

Cinco discos ou segmentos foram transferidos para placas de Petri (em triplicata), contendo meio batata, dextrose, ágar (BDA) (Dobranic et al., 1995) e examinadas diariamente, por 15 dias. Tão logo surgia micélio nas bordas do inóculo era feita a repicagem para BDA acidificado. As colônias após purificação foram mantidas em BDA e conservadas sob óleo mineral e pelo método de Castellani. Foram isolados fungos de 21 hospedeiros (Tabela 1).

## Identificação

As identificações em nível de gênero e espécie foram realizadas após oito dias de crescimento em cultura pura. Quando necessário, utilizou-se a técnica de cultivo em lâmina (Riddell, 1950). A caracterização morfológica foi procedida através de observações das características macroscópicas das colônias e microscópica das estruturas somáticas e reprodutivas. Com o auxílio de chaves taxonômicas existentes na literatura especializada chegou-se à identificação genérica, enquanto que as espécies foram identificadas comparando-se as descrições específicas (Arx e Muller, 1954; Guba, 1961; Muller e Arx, 1962; Seifert et al., 2011).

Tabela 1 - Fungos endófitos isolados (UFC) de quatro gêneros de plantas ornamentais e classes de frequência, dominância, abundância e constância das espécies fúngicas coletadas em três municípios da região Sul da Bahia

Espécie	Hospedeiro (1)				Local (2)			UFC (3)	Diversidade			
	HE	MU	CO	ET	SBV	SIF	FL		Frequência (4)	Dominância (5)	Abundância (6)	Constância (7)
<i>Acremonium</i> sp.	22	-	02	09	X		X	33	MF	ND	MA	C
<i>Aspergillus niger</i>	25	-	-	-	X	X		25	MF	ND	MA	A
<i>Chaetomium globosum</i>	02	-	-	-		X		2	PF	ND	R	S
<i>Cochliobolus cynodontis</i>	10	-	-	-	X		X	10	F	ND	C	S
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	35	03	18	03	X	X	X	59	MF	D	MA	C
<i>Corynespora cassicola</i>	02	-	-	-		X		2	PF	ND	R	S
<i>Curvularia lunata</i>	03	-	-	-	X	X		3	PF	ND	R	S
<i>Fusarium</i> sp.	01	-	-	-	X			1	PF	ND	R	S
<i>Glomerella cingulata</i>	17	05	-	08	X	X	X	30	MF	ND	MA	C
<i>Guignardia heliconiae</i>	03	-	-	-				3	PF	ND	R	S
<i>Melanospora zamiae</i>	03	-	-	-	X			3	PF	ND	R	A
<i>Nigrospora oryzae</i>	30	-	-	-	X	X		30	MF	ND	MA	A
<i>Nodulisporium</i> sp.	06	-	-	-		X		6	PF	ND	D	A
<i>Pestalotiopsis</i> aff. <i>caudata</i>	0	-	-	01	X			1	PF	ND	R	S
<i>Pestalotiopsis mangifolia</i>	02	-	-	-		X		2	PF	ND	R	S
<i>Pestalotiopsis matildae</i>	02	-	-	-		X		2	PF	ND	R	S
<i>Pestalotiopsis neglecta</i>	03	-	-	-	X			3	PF	ND	R	S
<i>Pestalotiopsis palmarum</i>	01	-	-	-	X			1	PF	ND	R	S
<i>Pestalotiopsis pauciseta</i>	02	-	-	-	X	X		2	PF	ND	R	S
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	-	-	01	-			X	1	PF	ND	R	S
<i>Phoma leveillei</i>	07	-	-	-	X			7	F	ND	C	S
<i>Phomopsis</i> sp.	04	-	-	-	X		X	4	PF	ND	R	S
<i>Phyllosticta</i> aff. <i>anacardiacearum</i>	02	-	-	-	X			2	PF	ND	R	S
<i>Setosphaeria rostrata</i>	02	-	-	-			X	2	PF	ND	R	S
<i>Xylaria</i> sp.	05	-	-	-	X			5	PF	ND	D	S

(1) HE = *Heliconia* spp; MU = *Musa coccinea*; CO = *Cordyline terminalis* cv. Baby Doll; ET = *Etlingera elatior* cv. Porcelain.; (2) SBV= Sítio Bela Vista, Una-BA ; SIF = Sítio Ilha Flora, Ilhéus-BA; FL= Fazenda Liberdade, Uruçuca-BA. (3) UFC = Unidades formadoras de colônias; (4) MF = Muito frequente; F = frequente; PF = pouco frequente; (5) D = Dominante; ND = não dominante; (6) MA = Muito abundante; C = comum; D = dispersa; R = rara; (7) C = Constante; A = acessória; S = acidental.

### Cálculo dos padrões de biodiversidade

As espécies identificadas foram agrupadas em categorias de: Constância utilizando-se o índice  $C = P/N \times 100$ , onde P = número de coletas contendo a espécie, N = número total de coletas, sendo considerado como táxon constante (C) aquele cuja presença foi  $\geq 50\%$  nas amostras, como acessória (A) entre  $\geq 25\%$  e  $< 50\%$  e acidental (S) quando  $< 25\%$  (Dajoz, 1983).

A riqueza foi determinada pelo número total de espécies amostradas em cada área de coleta (Brower et al., 1998).

A similaridade entre as áreas de coleta, períodos de coleta e cultivares foram obtidas a partir do coeficiente de Sørensen (Muller-Dombois, 1981).

$IS = 2c/A+B \times 100$ , onde A, B e C representam o número de espécies nas áreas A, B e C; c, o número de espécies comuns nas duas áreas.

Para o cálculo da abundância das espécies amostradas, utilizou-se uma medida de dispersão conforme Silveira Neto et al. (1976), determinando-se o intervalo de confiança (IC) da média aritmética para

1% e 5% de probabilidade. Foram adotadas as seguintes classes para estimar a abundância das espécies: Rara (número de indivíduos menor que o limite inferior de IC a 1 % de probabilidade); Dispersa (número de indivíduos situado entre os limites inferiores de IC a 5 e a 1 %); Comum (número de indivíduos situado dentro do IC a 5 %); Abundante (número de indivíduos situado entre os limites superiores de IC a 5 e a 1 %); Muito abundante (número de indivíduos maior que o limite superior de IC a 1 %).

A frequência foi determinada estabelecendo-se uma classe de frequência de acordo com cada intervalo de confiança (IC) da média aritmética da percentagem de 5% de probabilidade. Dessa maneira, foram determinadas as classes: Pouco frequente (PF) - frequência menor que o limite inferior de IC da média de 5% de probabilidade; Frequente (F) - frequência dentro dos limites inferior e superior de IC da média de 5% de probabilidade; Muito Frequente (MF) - frequência maior que o limite superior de IC da média de 5% de probabilidade propostas por Thomazini; Thomazini (2002). A dominância das espécies foi determinada através do cálculo limite de dominância a partir da equação

$LD = (1/S) 100$ , onde LD = limite de dominância e S = número total de espécies (Sakagami; Laroca, 1971).

Este parâmetro classificou as espécies em dominantes, quando os valores de frequência apresentavam-se superiores a este limite e não-dominantes, quando os valores encontrados foram menores.

## Resultados e Discussão

Das nove coletas realizadas em três propriedades rurais situadas em municípios da região Sul da Bahia, foram isolados representantes de 26 espécies fúngicas, oriundas de 240 colônias, a partir de 1350 fragmentos de partes vegetais assintomáticas. Um número de 404 colônias foi considerado “*Mycelia Sterilia*” por não esporularem em meio de cultura.

Dos 19 gêneros de fungos endófitos encontrados, *Colletotrichum* foi o mais frequente (Figura 1).

Os gêneros e espécies de fungos e respectivos hospedeiros relacionados a seguir são considerados endófitos e foram relatados por outros autores: *Acremonium* sp. em *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003), *Musa* spp. (Assunção, 2010) e *Vitis lambrusca* (Lima, 2010); *Aspergillus* sp. em *Eremanthus erythropappus* (Magalhães et al., 2008), e *Ilex paraguariensis* em Colombo-PR (Pimentel et al., 2006); *Chaetomium*

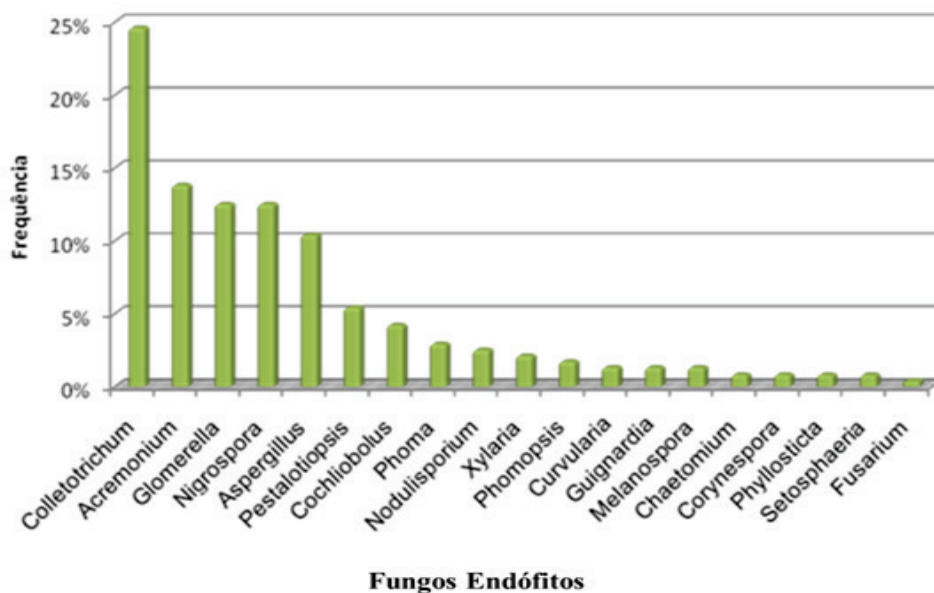


Figura 1- Frequência de ocorrência dos 19 gêneros de fungos endófitos isolados de plantas ornamentais tropicais, em três municípios da região Sul da Bahia de outubro de 2009 a julho 2010.



*globosum* em *Viguiera robusta* em Ribeirão Preto - SP (Momesso et al., 2008), e *Vellozia compacta* no Tocantins (Rodrigues, 2010); *Colletotrichum* spp. em *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003), *Annona squamosa* (Silva et al., 2006) *Musa* spp. (Assunção, 2010) e *Vitis labrusca* (Lima, 2010); *Coniothyrium* sp. em *Pinus taeda* (Pimentel et al., 2010); *Fusarium* spp. em *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003; Sebastianes, 2010), *Annona* spp. (Silva et al., 2006), *Ilex paraguariensis* (Pimentel et al., 2006), *Vitis labrusca* (Lima, 2010), *Musa* spp. (Assunção, 2010); *Glomerella* sp. em *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003), *Annona squamosa* (Silva et al., 2006) e *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (Luz et al., 2006), *Musa* spp. (Assunção, 2010) e *Vitis labrusca* (Lima, 2010); *Guignardia* spp. em muitos hospedeiros (Wickert et al., 2009; Costa, 2003); *Lasiodiplodia theobromae* em *Theobroma cacao* (Maki, 2006); *Pestalotiopsis microspora*, *P. maculans* e *Pestalotiopsis* sp. em raízes de *Vellozia compacta* (Rodrigues, 2010), folhas de *Musa* spp. (Assunção, 2010), *Vitis labrusca* (Lima, 2010) e *Pinus taeda* (Pimentel et al., 2010); *Phoma eupyrena* em *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003); *P. sorghina* em *Tithonia diversifolia* (Borges, 2008); *P. capitulum*, *P. sorghina* e *P. tracheiphila* como endofíticas em *Musa* spp. (Assunção, 2010); *Phomopsis* sp. em *Annona muricata* (Silva et al., 2006); *Phyllosticta* sp. em folhas de *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003); *Drechslera halodes*, anamorfo de *S. rostrata*, em espécies de Combretaceae e Loranthaceae (Kumaresan e Suryanarayanan, 2001; Kumaresan et al., 2002). Espécies de *Xylaria* foram isoladas como endófitas de *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* e *Avicennia nítida* (Costa, 2003; Sebastianes, 2010), “erva de rato” ou “café bravo” (*Palicourea marcgravii*) (Cafêu et al., 2005), *Eremanthus erythropappus* (Magalhães et al., 2008), *Vellozia compacta* (Rodrigues, 2010), e *Piper aduncum* (Silva et al., 2010).

No presente trabalho *Guignardia heliconiae* foi isolado de folhas saudáveis de *Heliconia chartacea* cv. Sexy Scarlet e *Melanospora zamia* e de inflorescência sadia de *Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinada*

cv. Fire Opol, não havendo relato dessa espécie como endófitas.

Os fungos endófitos isolados dos quatro gêneros de plantas ornamentais tropicais (*Heliconia*, *Musa*, *Etlingera* e *Cordyline*) foram relacionados de acordo as classes de frequência, dominância, abundância e constância (Tabela 1). Das 26 espécies fúngicas identificadas, *Acremonium* sp. e *Glomerella cingulata* (= *Colletotrichum gloeosporioides*) mostraram índices máximos de frequência, abundância e constância.

Provavelmente todas as plantas apresentam em seu interior microrganismos endófitos. Alguns são mais frequentes em determinado vegetal sendo designados dominantes, em contraposição a outros mais raros (Pileggi, 2006). De acordo com Borges (2008), a diversidade de fungos endófitos em uma planta pode ser muito alta, sendo que algumas espécies botânicas podem ter mais de 100 espécies de fungos associados em apenas um tipo de tecido, no entanto, estas comunidades são dominadas por poucas espécies que tem hospedeiros específicos.

### Diversidade por hospedeiro

Com relação aos fungos endófitos encontrados em cada hospedeiro, observou-se que *H. bihai* foi o que apresentou maior percentual de colonização com 19,51% do total de isolados, seguido por *C. terminalis*, *E. elatior* cv. Porcelain e *H. chartacea* cv. Sexy Scarlet (8,54%), *H. psittacorum* cv. Golden Torch (7,72%), *H. wagneriana* (6,91%), *H. psittacorum* x *H. spathocircinada* cv. Fire Opol (6,50%), *H. bihai* cv. Napi Yellow (5,69%), *H. stricta* cv. Iris Red (5,28%), *M. coccinea* e *H. caribaea* (3,25%), *H. chartacea* cv. Sexy Pinck e *H. wagneriana* cv. Turbo (2,44%), *H. collinsiana* e *H. stricta* cv. Tagami (2,03%), *H. librata*, *H. orthotricha* var. Total Eclipse e *H. rostrata* (1,63%), *H. psittacorum* x *H. spathocircinada* cv. Red Opol (1,22%). *Heliconia bihai* cv. Arco Iris e cv. Kamehamea obtiveram percentual de colonização menor que 1%.

Fatores como, distribuição geográfica, condições ecológicas, hospedeiro, idade da planta, luminosidade, umidade do ambiente afetam a quantidade e qualidade da microbiota endófitas (Peixoto Neto et al., 2004; Pimentel, 2006). A taxa de colonização dos fungos endófitos varia de espécie para espécie, e os fatores

abióticos e bióticos influenciam na quantidade e diversidade destes fungos nos hospedeiros (Faeth, 2002).

A similaridade entre as comunidades fúngicas endófitas nos hospedeiros coletados, calculada pelo coeficiente de Sorensen, na Fazenda Liberdade variou de 57,1 a 100 % (Tabela 2). Os hospedeiros com maior similaridade foram: *Heliconia. orthotricha* var. Total Eclipse / *H. librata*; *H. orthotricha* var. Total Eclipse / *Cordyline terminalis*; e *Etlingera elatior* cv. Porcelain / *M. coccinea*.

No sítio Ilha Flora a similaridade entre os hospedeiros variou de 57,1 a 80% (Tabela 3), sendo *Heliconia stricta* cv. Iris Red / *H. bihai* e *H. stricta* cv. Iris Red / *M.coccinea* os de maior similaridade.

No Sítio Bela Vista, apenas as comunidades de *Heliconia wagneriana* e *Etlingera elatior* cv. Porcelain (57,1%) foram similares.

Houve similaridade entre as comunidades fúngicas endófitas do Sítio Ilha Flora e do Sítio Bela Vista (Tabela 4), pois, segundo Mueller-Dombois; Ellenberg, (1974), duas comunidades são consideradas similares quando o índice de Sorensen for superior a 50%. Em Pernambuco, Assunção (2010) também encontrou similaridade entre as áreas onde coletou fungos endófitos de bananeira.

De acordo com Brower et al. (1998) que estudaram os fungos endófitos de *Musa* spp. em Hong Kong e

na Austrália, as condições físicas, químicas e biológicas dos solos afetam a diversidade dos fungos endófitos, daí a variação de uma área para outra.

No presente estudo, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* (= *Glomerella cingulata*) ocorreu nos três locais de estudo. Este fungo ora se apresenta como endófito, ora como fitopatogênico em inúmeros hospedeiros (Rojas et al., 2010).

### Diversidade por área de coleta

A Fazenda Bela Vista foi o local com maior frequência de isolados de fungos endófitos em plantas ornamentais tropicais com 34,58%, seguida de Sítio Ilha Flora (34,16%) e Fazenda Liberdade (31,25%). Em relação ao total de fungos endófitos isolados foi observado na ordem decrescente: Fazenda Liberdade (91), seguido do Sítio Bela Vista (83), e Sítio Ilha Flora (72).

Resultados semelhantes foram obtidos por Brower et al., (1998), ao isolarem fungos endófitos de *Musa* spp. em Hong Kong e na Austrália, e por Assunção (2010), no Brasil. De acordo com os autores, condições ambientais e condições físicas, químicas e biológicas dos solos afetam a diversidade dos fungos endófitos.

O cálculo da similaridade das comunidades fúngicas endófitas nas três áreas estudadas, encontra-

Tabela 2 - Número de espécies de fungos endófitos e índice de similaridade entre os hospedeiros coletados na Fazenda Liberdade, no município de Uruçuca, situado na região Sul da Bahia, de outubro de 2009 a julho 2010

Hospedeiros	Nº de espécies comuns	Índice Sorensen (%)
<i>Heliconia. orthotricha</i> var. Total Eclipse / <i>H. librata</i>	2	100
<i>H. orthotricha</i> var. Total Eclipse / <i>Cordyline terminalis</i>	2	100
<i>Etlingera elatior</i> cv. Porcelain / <i>M. coccinea</i>	2	100
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>E. elatior</i> cv. Porcelain	2	80
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>Musa coccinea</i>	2	80
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>H. librata</i>	2	66,67
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>C. terminalis</i>	2	66,67
<i>H. chartacea</i> cv. Sexy Scarlet / <i>H. bihai</i>	3	66,67
<i>H. chartacea</i> cv. Sexy Scarlet / <i>H. orthotricha</i> var. Total Eclipse	2	66,67
<i>H. librata</i> / <i>C. terminalis</i>	2	66,67
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>H. chartacea</i> cv. Sexy Scarlet	2	57,14
<i>H. chartacea</i> cv. Sexy Scarlet / <i>H. Librata</i>	2	57,14
<i>H. chartacea</i> cv. Sexy Scarlet / <i>C. terminalis</i>	2	57,14

Tabela 3 - Número de espécies de fungos endófitos e índice de similaridade entre os hospedeiros coletados no Sítio Ilha Flora, no município de Urucuca, situado na região Sul da Bahia, de outubro de 2009 a julho 2010

Hospedeiros	Nº de espécies comuns	Índice similaridade Sorensen (%)
<i>Heliconia stricta</i> cv. Iris Red / <i>H. bihai</i>	2	80
<i>H. stricta</i> cv. Iris Red / <i>M.coccinea</i>	2	80
<i>H. stricta</i> cv. Iris Red / <i>Heliconia caribaea</i>	2	66,67
<i>H. caribaea</i> / <i>H. stricta</i> cv. Tagami	2	66,67
<i>H. stricta</i> cv. Tagami / <i>H. chartacea</i> cv. Sexy Pinck	2	66,67
<i>H. stricta</i> cv. Iris Red / <i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow	2	57,14
<i>H.caribaea</i> / <i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow	2	57,14
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>H. stricta</i> cv. Tagami	2	57,14
<i>H. bihai</i> cv. Napi Yellow / <i>H. chartacea</i> cv. Sexy Pinck	2	57,14

se na Tabela 4, onde se observa que os sítios Ilha Flora e Bela Vista apresentaram a maior similaridade entre todas as áreas.

### Diversidade por época de coleta

O período entre os meses de abril a junho foi o que ocorreu o maior número de unidades formadoras de colônias nas três áreas estudadas, com um total de 121 colônias, seguido pelo período de janeiro a março com 62 colônias. Apenas *Colletotrichum gloeosporioides* e *Glomerella cingulata* ocorreram nos quatro períodos de coleta.

Segundo Maki (2006), a estrutura da comunidade endófito varia em função do ambiente ao qual a planta está adaptada, bem como, das oscilações de fatores abióticos, tais como, temperatura, regime de chuvas que determinam a predominância de espécies de microrganismos presentes no ambiente. A riqueza e a composição de fungos endófitos estão relacionadas às estações do ano (Assunção, 2010).

Tabela 4 - Número de espécies de fungos endófitos associados e índice de similaridade entre as áreas de coleta, na região Sul da Bahia de Outubro de 2009 a julho 2010

Área de coleta	Nº de fungos comuns	Índice de similaridade (%)
Sítio Ilha Flora /Fazenda Liberdade	5	45,4%
Sítio Ilha Flora/Sítio Bela Vista	8	59,2%
Fazenda Liberdade/Sítio Bela vista	7	56,0%

### Conclusões

- ✓ Foi encontrada uma alta diversidade de fungos nas plantas ornamentais tropicais estudadas.
- ✓ A diversidade variou em função dos locais de coleta, ano e espécie do hospedeiro.
- ✓ *Acremonium* sp. e *Glomerella cingulata* apresentaram índices máximos de frequência, dominância, abundância e constância.
- ✓ *Heliconia bihai* foi a espécie ornamental com a maior frequência de colonização por fungos.

### Agradecimentos

A Ceplac pelo uso de laboratórios e equipamentos; à FAPESB pela concessão da bolsa (março/2010 a fevereiro/2011); aos colegas do Laboratório de Diversidade de Fungos, Kátia Maria Bezerra, Cristiane Duarte e Marcos Vinícius Santos; a João de Cássia do B. Costa; aos produtores rurais Ângelo, José Luís Pires, Helvécio e seus respectivos colaboradores, pelo fornecimento de material vegetal e apoio durante as coletas; e ao CNPq pela concessão de bolsas de produtividade em pesquisa ao segundo e ao quarto autor.

### Literatura Citada

ARAÚJO, W. L. et al. 2002. Manual: isolamento de microrganismos endofíticos. Piracicaba, SP, USP/ESALQ. 86p.

- ARX, J. A; MÜLLER, E. 1954. Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz, Wabern-Bern 1(1):1-434.
- ASSUNÇÃO, M. M. C. 2010. Fungos endófitos isolados de folhas de bananeira (*Musa* spp.) e seleção de antagonistas a fitopatógenos dessa cultura. Tese Doutorado, Recife, PE, UFPE. 137p.
- BACON, C. W.; HINTON, D. M. 2002. Endophytic and biological control potential of *Bacillus mojavensis* and related species. *Biological Control* 23:274-284.
- BORGES, W. S. 2008. Estudo de fungos endofíticos associados a plantas da família Asteraceae como fontes de metabólitos secundários em processos de biotransformações. Tese Doutorado. Ribeirão Preto, SP, USP/FCFRP. 40p.
- BROWER, J. E.; ZAR, J. H.; VON ENDE, C. A. 1998. Field and laboratory methods for general ecology. 4 ed. Boston, WCB McGraw-Hill. 273p.
- CAFÊU, M. C. et al. 2005. Substâncias antifúngicas de *Xylaria* sp., um fungo endofítico isolado de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). *Química Nova* (Brasil) 28(6):991-995.
- COSTA, I. P. M. W. 2003. Fungos endofíticos isolados de vegetais do manguesal do Rio Paripe, Ilha de Itamaracá. Dissertação Mestrado. Recife, PE, UFPE. 72p.
- DAJOZ, R. 1983. Ecologia Geral. Petrópolis, RJ, Vozes. 47p.
- DOBRANIC, J. K.; JOHNSON, J. A.; ALIKHAN, Q. R. 1995. Isolation of endophytic fungi from eastern larch (*Larix laricina*) leaves from New Brunswick, Canada. *Canadian Journal of Microbiology* 41:194-198.
- FAETH, S. H. 2002. Are endophytic fungi defensive plant mutualists. *Oikos*, Arizona 98(1):25-36.
- GARBEVA, P. et al. 2001. Analysis of endophytic bacterial communities of potato by plating and denaturing gradient gel electrophoresis (DGE) of 16S rDNA based PCR fragments. *Microbial Ecology* 41:369-383.
- GUBA, E. F. 1961. Monograph of *Pestalotia* and *Monochaetia*. Harvard University Press. Monograph, Cambridge, Massachusetts USA, 342p.
- HALLMANN, J. et al. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43(10):895-914.
- KUMARESAN, V; SURYANARAYANAN, T. S. 2001. Occurrence and distribution of endophytic fungi in a mangrove community. *Mycological Research* 11(105):1388-1911.
- KUMARESAN, V; SURYANARAYANAN, T. S; JOHNSON, J. A. 2002. Ecology of mangrove endophytes. In: *Fungi of Marine. Environments*. K. D. Hyde. *Fungal Diversity Research Series* 9, Hong Kong. cap.10.
- LIMA, T. E. F. 2010. Micobiota Endofítica de *Vitis labrusca* L. CV. Isabel em regiões do Vale do Siriji, Pernambuco, Brasil. Dissertação Mestrado. Recife, PE, UFPE. 58p.
- LUZ, J. S. et al. 2006. Atividade enzimática de fungos endofíticos e efeito na promoção do crescimento de mudas de maracujazeiro-amarelo. *Caatinga* (Brasil) 19(2):128-134.
- MAGALHÃES, W. C. S. et al. 2008. Diversidade de fungos endofíticos em Candeia *Eremanthus erythropappus* (DC). *MacLeish. Cerne* (Brasil) 14(3):267-273.
- MOMESSO, L. S. et al. 2008. Chaetoglobosinas produzidas por *Chaetomium globosum*, fungo endofítico associado à *Viguiera robusta* Gardn. (Asteraceae). *Química Nova* (Brasil) 31(7): 1680-1685.
- MAKI, C. S. 2006. Diversidade e potencial biotecnológico de fungos endofíticos de cacau. Tese Doutorado. Piracicaba, SP, USP/ESALQ. 127p.
- MULLER, E; ARX, J. A. V. 1962. Die Gattungen der



- didymosporen Pyrenomiceten. Beitr. Kryptogammenfl. Schweiz, Wabern- Bern 11 (2): 1-922.
- MUELLER-DOMBOIS, D.; ELLENBERG, D. H. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. New York, John Wiley and Sons. 574p.
- MULLER-DOMBOIS, D. 1981. Ecological measurements and microbial populations. In: Wicklow D. T.; Carroll, G. C. eds. The fungal community: Its organization and role in the ecosystem. New York, Marcel Dekker. pp. 173-184.
- MUNDT, J. O.; HINKLE, N. F. 1976. Bacteria within ovules and seeds. Applied and Environmental Microbiology 32: 694-698.
- PEIXOTO-NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. 2004. Microrganismos endofíticos. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, Brasília, nº 29. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio29/micro.asp>>. Acesso em: 16 junho. 2011.
- PILEGGI, S. A. V. 2006. Isolamento e caracterização de microrganismos endofíticos de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. por meio de marcadores RAPD e seu potencial farmacológico. Tese Doutorado. Curitiba, PR, UFPR. 141p.
- PIMENTEL, I. C. et al. 2006. Fungos endofíticos em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). Floresta (Brasil) 36(1):124-128.
- PIMENTEL, I. C.; FIGURA, G.; AUER, C. G. 2010. Fungos endofíticos associados a acículas de *Pinus taeda*. Summa Phytopathologica (Brasil) 36(1):85-88.
- RIDELL, R.W. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. Mycologia 1(42):265.
- RODRIGUES, R. L. 2010. Fungos endofíticos associados à *Vellozia compacta* Mart. ex Schult. F. (Velloziaceae) presente em afloramentos rochosos nos estados de Minas Gerais e Tocantins. Dissertação Mestrado. Ouro Preto, MG, UFOP. 70p.
- ROJAS, E. I. et al. 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogeny distinguish pathogen and endophyte clades. Mycologia 102:1318-1338.
- SAKAGAMI, S. F.; LAROCA, S. 1971. Relative abundance, phenology and flower visits of apid bees in Eastern Paraná, South Brazil (Hym. Apidae). Kontyû 39: 213-30.
- SEBASTIANES, F. L. S. 2010. Diversidade genética e potencial biológico de fungos endofíticos de mangueais do estado de São Paulo. Tese Doutorado. Piracicaba, SP, USP/ESALQ. 150p.
- SEIFERT, K. A. et al. 2011. The Genera of Hyphomycetes. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre CBS Biodiversity 9.
- SILVA, J. M. et al. 2010. Influência de inoculante bacteriano-enzimático sobre a microbiota e qualidade nutricional de silagens de grãos úmidos de milho. Ciência Animal Brasileira 11(1):62-72.
- SILVA, R. L. O. et al. 2006. Fungos endofíticos em *Annona* spp.: isolamento, caracterização enzimática e promoção do crescimento em mudas de pinha (*Annona squamosa* L.). Acta Botânica Brasileira 20(3):649-655.
- SILVEIRA-NETO, S. et al. 1976. Manual de Ecologia dos insetos. São Paulo, Editora Agronômica Ceres. 419p.
- STROBEL, G. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. Microbes and Infection 5: 535-544.
- STURZ, A. V. et al. 1999. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. Plant Pathology 48: 360-369.
- THOMAZINI, M. J.; THOMAZINI, A. P. B. W. 2002. Diversidade de abelhas (Hymenoptera: Apoidea) em inflorescências de *Piper hispidinervum* (C.D.C.). Neotropical Entomology 31(1):27-34.



WICKERT, E. et al. 2009. Relações filogenéticas e diversidade de isolados de *Guignardia* spp. oriundos de diferentes hospedeiros nas regiões

ITS1-5, 8S-ITS2. Revista Brasileira de Fruticultura 31(2):360-380.



## NOTA CIENTÍFICA

### ONICÓFORO *Peripatus* sp. (ONYCHOPHORA: PERIPATIDAE) COMO INDICADOR DE CONECTIVIDADE NA PAISAGEM CACAUEIRA NO SUDESTE DA BAHIA, E SUA IMPORTÂNCIA PARA A CONSERVAÇÃO

*Jacques Hubert Charles Delabie<sup>1,2</sup>, Carlos Jared<sup>3</sup>, Marta Maria Antoniazzi<sup>3</sup>, Benoit Jahyny<sup>1,4</sup>, Sébastien Lacau<sup>5</sup>, Cléa dos Santos Ferreira Mariano<sup>1,6</sup>, Alexandre Vasconcellos<sup>7</sup>*

<sup>1</sup>CEPLAC/CEPEC/Laboratório de Mirmecologia, Convênio UESC-CEPEC, km 22 Rod. Ilhéus/Itabuna C.P. 7, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. jacques.delabie@gmail.com. <sup>2</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz/DCAA, 45650-000 Ilhéus, BA, Brasil. <sup>3</sup>Laboratório de Biologia Celular, Instituto Butantan. Av. Vital Brasil 1500, 05503-900, São Paulo, Brasil. jared@usp.br mmantoniazzi@butantan.gov.br. <sup>4</sup>Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée, Université Paris Nord, 93440 Villetaneuse, França. jahynybenoit@gmail.com. <sup>5</sup>UESB/Departamento de Estudos Básicos e Instrumentais, 45700-000, Itapetinga, BA, Brasil. tamandua6@gmail.com. <sup>6</sup>UESC/Departamento de Ciências Biológicas, 45650-000 Ilhéus, BA, Brasil. camponotu@hotmail.com. <sup>7</sup>Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 59072-970 Natal, RN, Brasil. avasconcellos@cb.ufrn.br

Entre os invertebrados, os onicóforos são considerados um táxon-bandeira cuja ocorrência indica áreas preservadas de elevada diversidade biológica. Esses organismos são extremamente frágeis por serem sensíveis à desidratação. Eles são encontrados em áreas onde existe um microhabitat favorável e constantemente úmido na superfície do solo, com uma camada de detritos orgânicos. Devido a esta fragilidade e sua capacidade reduzida de dispersão, paisagens fragmentadas comprometem a sobrevivência dos onicóforos em médio prazo. Sua sobrevivência vai depender da existência de áreas contíguas com serapilheira contínua, numa paisagem relativamente homogênea, como quando remanescentes de floresta alternam com cacauais.

**Palavras-chave:** invertebrados, indicador biológico, região neotropical.

**The velvet worm *Peripatus* sp. (Onychophora: Peripatidae) as a connectivity indicator in the cocoa landscape in southeast of the state of Bahia, Brazil, and its importance for conservation.** Among the invertebrates, velvet worms are seen as a flag-taxon which the occurrence indicates well preserved areas with a high biological diversity. Their fragility is especially high, as they are sensitive to dehydrating. These organisms can be encountered in areas with a favorable and constantly wet microhabitat at the soil surface, with a layer of organic detritus. Due to their fragility and their reduced ability to dispersion, fragmented landscapes compromise the velvet worm surviving at medium term. Their survival will depend from the existence of a continuous litter layer in a relatively homogenous landscape, as it happens when forest remnants alternate with cocoa plantations.

**Key words:** invertebrates, biological indicator, Neotropical Region.

Em ecologia de paisagens, a conectividade pode ser definida pelo grau de permeabilidade através da qual a paisagem considerada permite o movimento dos indivíduos de determinada espécie entre compartimentos distintos (Blondel, 1995). Assim os profissionais comprometidos com uma produção de cacau “amigável à natureza”, consequentemente com a conservação da biodiversidade, recomendam que os princípios da conectividade sejam mantidos na paisagem cacauzeira. Isso deve ocorrer de forma a que as espécies possam circular sem encontrarem barreiras entre sucessivos componentes do mosaico de ambientes (por exemplo, do agrossistema para a floresta) (Schroth e Harvey, 2007).

No Brasil, estudos visando o conhecimento biológico dos onicóforos são ainda escassos, apesar do grande interesse que esses invertebrados despertam na comunidade de biólogos por se tratarem de organismos raros e frágeis, com uma história evolutiva notável e cuja ocorrência testemunha a qualidade do ambiente onde se encontram. Recentemente, apresentamos sucintamente o caso de uma espécie de onicóforo nos cacauais da Bahia e sua importância em conservação (Delabie et al., 2011), tema que voltamos a desenvolver a seguir a partir de uma revisão de literatura e de diferentes observações realizadas sobre ocorrência de onicóforos em cacauais.

Trata-se de uma espécie nova do gênero *Peripatus* (Onychophora: Peripatidae), gentilmente identificada pelo Dr. Amazonas Chagas Jr. do Museu Nacional do Rio de Janeiro. Essa espécie, já ocasionalmente observada por alguns de nós há vários anos, é encontrada na superfície do solo dos cacauais experimentais (14°45'S e 39°13'W) do Centro de Pesquisa do Cacau, CEPLAC, em Ilhéus, Bahia, e na sua região. Na Bahia, só há registros de outras espécies não identificadas do gênero *Peripatus* na Serra da Jibóia, município de Santa Terezinha (Vasconcellos et al., 2006) e em Porto Seguro (Sampaio-Costa et al., 2009).

O filo Onychophora (Protostomia: Ecdizozoa) é representado por cerca 160 espécies modernas de distribuição gondwânica (Tait et al., 1995; Santana et al., 2008). Apesar de terem uma origem marinha remota (Tait et al., 1995), todos onicóforos atuais são terrestres. São invertebrados com taxonomia complexa (Sampaio-Costa et al., 2009; Oliveira et al., 2011) e de posição filogenética controversa. Por muito tempo foram

considerados intermediários entre Annelida e Arthropoda, mas análises cladísticas baseadas em dados morfológicos e moleculares mostram que são próximos ao ancestral comum a todos os artrópodes.

Os onicóforos modernos se distribuem em duas famílias, os Peripatopsidae e os Peripatidae. Somente os peripatídeos estão representados no Brasil, onde se distribuem em quatro gêneros e compreendem, até o momento, 24 morfoespécies conhecidas (Sampaio-Costa et al., 2009). Nos últimos anos, diversos exemplares foram coletados na Mata Atlântica e identificados como sendo dos gêneros *Epiperipatus*, *Macroperipatus* e *Peripatus* (Sampaio-Costa et al., 2009). Poucos, entretanto, chegaram a ser classificados em nível de espécie, devido a dificuldades taxonômicas inerentes ao grupo (Sampaio-Costa et al., 2009; Oliveira et al., 2011).

Esses organismos apresentam, grosseiramente, o aspecto de lagartas medindo até 8 cm no caso das espécies brasileiras, cujos 14 a 43 segmentos são visíveis através de curtos apêndices ventrais não articulados e terminados por pequenas garras, os lobopódios. O corpo é coberto por uma cutícula quitinosa, fina, flexível e de aspecto aveludado. A cabeça ostenta três pares de apêndices: antenas, mandíbulas e papilas orais curtas e cônicas, além do orifício de glândulas de muco. As espécies são dióicas e frequentemente vivíparas. Por possuírem espiráculos permanentemente abertos e uma cutícula extremamente permeável, somente vivem em locais úmidos. São encontrados de preferência na serapilheira de formações florestais, dentro ou embaixo de troncos, ou ainda em cavernas, onde caçam pequenos invertebrados que capturam graças à projeção de um jato de muco pegajoso, secretado pelas glândulas cefálicas (Oliveira et al., 2011).

A maioria dos onicóforos tem mobilidade reduzida e pouca aptidão para colonizar habitats fragmentados, principalmente em razão da sua grande sensibilidade à desidratação (Santana et al., 2008). Assim, esses animais costumam ser encontrados em áreas de solos e vegetação preservados. São considerados raros e possuem a reputação de serem “fósseis vivos” (New, 1995). Todas essas características levam os onicóforos a serem objetos da atenção tanto dos ecologistas como dos poderes públicos. Os Onychophora em geral foram colocados na condição de invertebrados vulneráveis

pela IUCN, com 10 espécies inseridas na lista atual em diferentes categorias de ameaças (IUCN 2012), e outra caracterizada em perigo inserida na Lista Nacional das Espécies da **Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção** (MMA, 2003). Entre os invertebrados, eles são considerados um táxon-bandeira cuja ocorrência indica regiões bem preservadas e de alta diversidade biológica (New, 1995). Essas características fazem com que as notificações de ocorrência desses animais adquiram considerável importância, podendo justificar políticas públicas de conservação, como no caso da Estação Ecológica de Tripuí (MG), criada com o intuito de preservar a espécie *Peripatus acacioi* (Marcus e Marcus) (Santana et al., 2008). Esse foi um dos poucos casos no mundo de criação de uma reserva legal visando à proteção efetiva de um invertebrado. Há alguns anos, medidas semelhantes foram tomadas em diversos países do hemisfério sul, tais como África do Sul, Austrália e Nova Zelândia (New, 1995; Hamer et al., 1997; Treweek, 1998). No Brasil, diversas publicações tiveram também o objetivo de validar a necessidade de conservação de áreas onde já foram encontrados onicóforos (Vasconcellos et al., 2006; Santana et al., 2008).

Na serapilheira dos cacauais da Bahia, *Peripatus* sp. é encontrado embaixo de madeira podre ou em contato com materiais em decomposição. Os indivíduos tem comprimento de 3 a 8 cm, com 27 a 30 pares de lobopódios, e apresentam coloração marrom-acinzentada (Figura 1). São animais de comportamento lento, lucífugos e, ao serem estressados, liberam uma



Figura 1 - *Peripatus* sp.n. dos cacauais de Ilhéus, Bahia (foto: Carlos Jared).

secreção pegajosa produzida por suas glândulas cefálicas. Indivíduos desta espécie foram mantidos em laboratório, alimentados por cupins e outros insetos pequenos, mas nenhum comportamento ativo de predação foi observado. A manutenção desses indivíduos propiciou, sobretudo, a constatação da viviparidade dessa espécie dos cacauais, pois se observou uma fêmea de 7 cm dar à luz a dois juvenis de 3 cm, com um intervalo de duas semanas.

Em outra oportunidade, objetivando o estudo de populações de formigas dos cacauais do CEPEC, uma fêmea de *Peripatus* sp. foi encontrada por um de nós (BJ) abrigada numa concha de *Megalobulimus gummatum* (Hidalgo) (Mollusca, Megalobulimidae) e parcialmente ocupada por uma colônia de *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera, Formicidae). Alguns dias depois, essa fêmea deu a luz a um juvenil, no laboratório. Por sua vez, McGlynn e Kelley (1999) relataram a ocorrência de onicóforos em formigueiros de *Pheidole* spp. na serapilheira de uma floresta da Costa Rica, onde procuram se esconder durante o dia. Uma hipótese a ser testada é se a procura da proteção por animais agressivos, tais como formigas, é frequente ou casual nesses organismos.

A ocorrência de onicóforos no agro-ecossistema cacaueteiro não se restringe ao caso brasileiro aqui descrito. Read (1988) notifica a ocorrência de diferentes espécies na serapilheira dos cacauais das ilhas de Trinidad: *Epiperipatus trinidadensis* (Sedgwick) e *Macropерipatus torquatus* (von Kennel), e de Tobago: *Epiperipatus broadwayi* (Clark).

Não levando em conta diversas espécies cavernícolas descritas na literatura, além de serem encontrados em florestas, os onicóforos também podem ser encontrados em áreas com vegetação secundária ou mesmo em savanas, desde que essas áreas proporcionem condições para a manutenção de um microhabitat favorável úmido na superfície do solo, com a presença, por exemplo, de uma camada de detritos vegetais (Read, 1988; Hamer et al., 1997). No entanto, é muito grande a sua fragilidade, representada principalmente por uma extrema sensibilidade à desidratação. Paisagens fragmentadas comprometem a sobrevivência dos onicóforos em médio prazo. Sua sobrevivência depende da existência de uma serapilheira contínua numa paisagem relativamente homogênea, como a que existe na região de Ilhéus e Itabuna onde

alternam remanescentes de floresta e cacauais. Por sua vez, as paisagens fragmentadas como ambientes abertos amplos (por exemplo, pastagens, cultivos de diversas naturezas desprovidos de camada foliar no solo ou onde a camada foliar é parcialmente removida) são desfavoráveis à manutenção e ao desenvolvimento das populações desses organismos. Consequentemente, conclui-se que os onicóforos são os organismos ideais para caracterizar áreas de elevada qualidade ambiental, inclusive cacauais adequadamente manejado e outros tipos de agroflorestas, porque denotam boa conectividade entre ambientes onde o solo e a camada foliar (serapilheira), principalmente, conservaram estrutura e características bióticas próximas às da floresta original.

### Agradecimentos

Os autores agradecem Antônio Jorge Suzart Argôlo, José Abade da Silva, José Raimundo Maia dos Santos, Dr. Amazonas Chagas e o Dr. Ricardo Pinto-da-Rocha por seu auxílio a diferentes momentos da elaboração deste estudo. JHCD é bolsista de produtividade do CNPq.

### Literatura Citada

- BLONDEL, J. 1995. Biogéographie. Approche écologique et évolutive. Masson, Paris.
- DELABIE, J. H. C. et al. 2011. Paisagem cacauaieira no sudeste da Bahia: desafios e oportunidades para a conservação da diversidade animal no século XXI. *Agrotrópica (Brasil)* 23(2/3):107-114.
- HAMER, M. L.; SAMWAYS, M. J.; RUHBERG, H. 1997. A review of the Onychophora of South Africa; with discussion of their conservation. *Annals of the Natal Museum* 38:283-312.
- IUCN. 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. consultada em 03/05/2013.
- MCGLYNN, T. P.; KELLEY, C. D. 1999. Distribution of a Costa Rican lowland wet forest velvet worm (Onychophora: Peripatidae). *Annals of the Entomological Society of America* 92: 53-55.
- MMA. 2003. <http://www.agirazul.com.br/Especies/brasil.htm>. Consulta em 14/11/2009.
- NEW, T. R. 1995. Onychophora in invertebrate conservation: priorities; practice and prospects. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 114: 77-89.
- OLIVEIRA, I. S. et al. 2011. Cryptic speciation in Brazilian *Epiperipatus* (Onychophora: Peripatidae) reveals an underestimated diversity among the peripatid velvet worms. *PLoS ONE* 6 (6): e19973.
- READ, V. M. St. J. 1988. The Onychophora of Trinidad; Tobago and the Lesser Antilles. *Zoological Journal of the Linnean Society* 93:225-257.
- SAMPAIO-COSTA, C.; CHAGAS-JUNIOR, A.; BAPTISTA, R. L. C. 2009. Brazilian species of Onychophora with notes on their taxonomy and distribution. *Zoologia* 26(3):553-561.
- SANTANA, G. G. et al. 2008. Extension of the northern distribution of Onychophora in the Brazilian Atlantic Forest. *Biotemas* 21(2):161-163.
- SCHROTH, G.; HARVEY, C. 2007. Biodiversity conservation in cocoa production landscapes: an overview. *Biodiversity and Conservation* 16: 2237-2244.
- TAIT, N. N.; BRISCOE, D. A.; ROWELL, D. M. 1995. Onychophora - ancient and modern radiations. *Memories of the Association of Australasian Palaeontologists* 18:21-30.
- TREWICK, S. A. 1998. Sympatric cryptic species in New Zealand Onychophora. *Biological Journal of the Linnean Society* 63:307-329.
- VASCONCELLOS, A.; ALMEIDA, W. O.; SOUZA, L. A. 2006. Onychophora in humid forests of Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 66(1A):187-189.





## AGRADECIMENTOS AOS CONSULTORES CIENTÍFICOS

O sucesso de uma Revista depende não só da boa qualidade dos artigos submetidos para publicação, como também, dos comentários e sugestões dos assessores científicos, de cujos pareceres a Comissão Editorial não pode prescindir em suas decisões.

A revista *Agrotrópica*, através do seu conselho editorial, deseja expressar seu mais profundo agradecimento aos especialistas que, em setembro a dezembro de 2013, colaboraram na revisão de um ou mais artigos a eles enviados pelo editor. A publicação de seus nomes é um testemunho do nosso mais profundo reconhecimento pela sua valiosa colaboração com a revista.

- Aline Silva (1) UESC - Ilhéus - BA
- Alexandre Dias Munhoz (1) UESC - Ilhéus - BA
- Daniel Ornelas Ribeiro (1) UESC - Ilhéus - BA
- Daniele Camargo Scotton (1) UESC - Ilhéus - BA
- Didier Pierre Louis Clement (1) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Elpidio Francisco Neto (1) CEPLAC/ESFIP - Linhares - ES
- Edson Luiz Furtado (1) USP/UNESP - Botucatu - SP
- Fernando Luiz de Oliveira Correia (2) CEPLAC/SUERO - Porto Velho - RO
- George Andrade Sodré (2) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Heitor Cantarella (1) IAC - Campinas - SP
- José Luiz Pires (1) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- José Raimundo Natividade Ferreira Gomes (1) EMBRAPA/CPATU - Belém - PA
- Livia Santos Lemos (1) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Luiz Alberto Mattos Silva (1) UESC - Ilhéus - BA
- Marcelo Schramm Mielke (1) UESC - Ilhéus - BA
- Paulo Cesar Lima Marrocos (1) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Paulo Yoshio Kageyama (1) USP/ESALQ - Piracicaba - SP
- Quintino Reis de Araujo (1) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Rafael Edgardo Chepote (1) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Robério Gama Pacheco (2) CEPLAC/CEPEC - Ilhéus - BA
- Rogério Mercês Fereira Santos (1) UESC - Ilhéus - BA
- Ronaldo Costa Argôlo Filho (1) UESC - Ilhéus - BA

\*Os números entre parênteses, após os consultores, indicam o número de trabalhos revisados.



**CENTRO DE PESQUISA DO CACAU – JUBILEU DE OURO**  
**13/11/1963 – 13/11/2013**

A CEPLAC é autorizada a criar o Centro de Pesquisas do Cacau por meio do Decreto do Conselho de Ministros de nº 1.960 de 27/12/1962, publicado no D.O.U. de 28/12/1962, retificado e publicado novamente no D.O.U. em 03/01/1963 – Seção 1, pág. 47. Este Decreto autorizava a CEPLAC a utilizar recursos para criação do Centro de Pesquisas do Cacau. No art. 4º diz **“Fica a Ceplac autorizada a designar, por Portarias, uma Comissão de Técnicos para a escolha de área a ser adquirida para o CEPEC e outra para delinear os programas de sua ação e construção”**. A CEPLAC realiza convênios com o Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas da OEA e com o Ministério da Agricultura. Nesse ano inicia-se o reconhecimento dos solos das regiões cacaueiras da Bahia e Espírito Santo e intensificação dos trabalhos de seleção de cacaueiros de alta produtividade. No ano seguinte o Secretário Geral da CEPLAC o Dr. CARLOS BRANDÃO, através da portaria nº 27 e 28 de janeiro e fevereiro de 1963, designa os técnicos para comporem a Comissão que irá escolher a área para instalação do CEPEC. Em 30/05/1963, é publicada a Portaria nº 30, onde o Dr. CARLOS BRANDÃO, Secretário Geral da CEPLAC, designa o Dr. PAULO DE TARSO ALVIM CARNEIRO como “Coordenador Técnico Geral” da CEPLAC, com as atribuições de coordenação do Centro de Pesquisa-CEPEC (em instalação), todos os serviços técnico-agrícolas direta ou indiretamente ligados à CEPLAC e a direção técnica do Escritório Central de Coordenação da CEPLAC. Em 17/06/1963, são instalados os trabalhos para o “Planejamento Geral da Instalação do CEPEC”. O Decreto Nº 52.175, de 28 de junho de 1963, declara de utilidade pública a área situada na zona cacaueira do Estado da Bahia, para instalação do Centro de Pesquisas do Cacau ‘CEPEC’, com base no parecer das Comissões instituídas pela CEPLAC. **Em 13/11/1963, Dr. PAULO ALVIM recebe oficialmente as chaves do Centro de Pesquisas do Cacau das mãos do Dr. CARLOS BRANDÃO**, e de forma simbólica, abre as portas da ciência para a cultura do cacaueiro nas áreas produtoras do Brasil. Os trabalhos do CEPEC foram iniciados em casas residenciais adaptadas na área destinada à construção do Centro de Pesquisas. Em 05/06/72 são inauguradas as novas instalações do Centro de Pesquisas do Cacau, no km 22 da Rodovia Ilhéus/Itabuna, com a presença do Ministro da Fazenda DELFIM NETO, do Governador da Bahia ANTÔNIO CARLOS MAGALHÃES e outras autoridades, constituindo-se no maior acontecimento na vida do órgão desde a sua criação. Com as novas instalações, o Centro cresceu, tornando-se referência mundial em pesquisas de plantas tropicais, alcançando a posição de maior Centro de Pesquisas da América Latina. Agradecimentos a todos que contribuíram de forma direta e indiretamente para esse grandioso empreendimento que hoje comemora meio século a serviço da agricultura deste País.

Em 13/11/1963, Dr. PAULO ALVIM recebe as chaves do Centro de Pesquisas do Cacau das mãos do Dr. CARLOS BRANDÃO, e de forma simbólica, abre as portas da ciência para a cultura do cacaueteiro nas áreas produtoras do Brasil.



Recebimento da chave onde seria instalada a  
Sede Regional da Ceplac 13-11-1963



Recebimento da área onde seriam instalados a  
Sede Regional da Ceplac e Centro de Pesquisas do Cacau



Vista da fachada do Centro de Pesquisas do Cacau - 1963



## **POLÍTICA EDITORIAL**

A Revista Agrotrópica está completando 42 anos, foi criada em 1971, sendo originalmente conhecida como Revista Theobroma. Por ter um caráter interdisciplinar, constitui-se num veículo para comunicação científica em várias áreas como: Biodiversidade, Ciências Agrárias, Ambientais, Veterinária, Zootecnia, Tecnologia de Alimentos, Geografia, Geociências, Socioeconomia, etc. A revista é publicada quadrimestralmente e está destinada a divulgação de trabalhos originais que têm contribuição real para o desenvolvimento agroecológico, ambiental e socioeconômico das Regiões Tropicais Úmidas.

A Revista Agrotrópica publica não apenas artigos científicos, como também notas científicas, revisões bibliográficas relevantes e de natureza crítica, todos em três idiomas: Português, Inglês e Espanhol. Publica também cartas endereçadas ao Editor sobre trabalhos publicados.

Os Autores são os responsáveis exclusivos pelo conteúdo do trabalho, todavia, o Editor, com a assessoria científica do Conselho Editorial da Revista, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações que considerarem necessárias.

Editor Chefe

## **EDITORIAL POLICY**

The Agrotrópica Journal is completing 42 year old, was created in 1971, being formerly known as Theobroma Journal. As having an interdisciplinary character, it constitutes in a vehicle for scientific communication in various areas as: Biodiversity, Agricultural Sciences, Environmental Science, Veterinary, Animal Science, Food Technology, Geography, Geosciences, Socioeconomics, etc. The journal is published every four months and is destined to dissemination of original scientific works that have real contributions to the development agroecological, environmental and socioeconomic of the tropical rain regions.

The Agrotrópica Journal publishes not only scientific papers, but also scientific notes, relevant bibliographical reviews and of critical nature, all in three idioms: Portuguese, English and Spanish. It also publishes letters to the editor about published works.

The authors are solely responsible for the content of the work, however, the Editor, with the scientific accessory of the Editorial Board, reserves the right of suggesting or requesting the changes that seem to be necessary.

Editor-in-Chief



