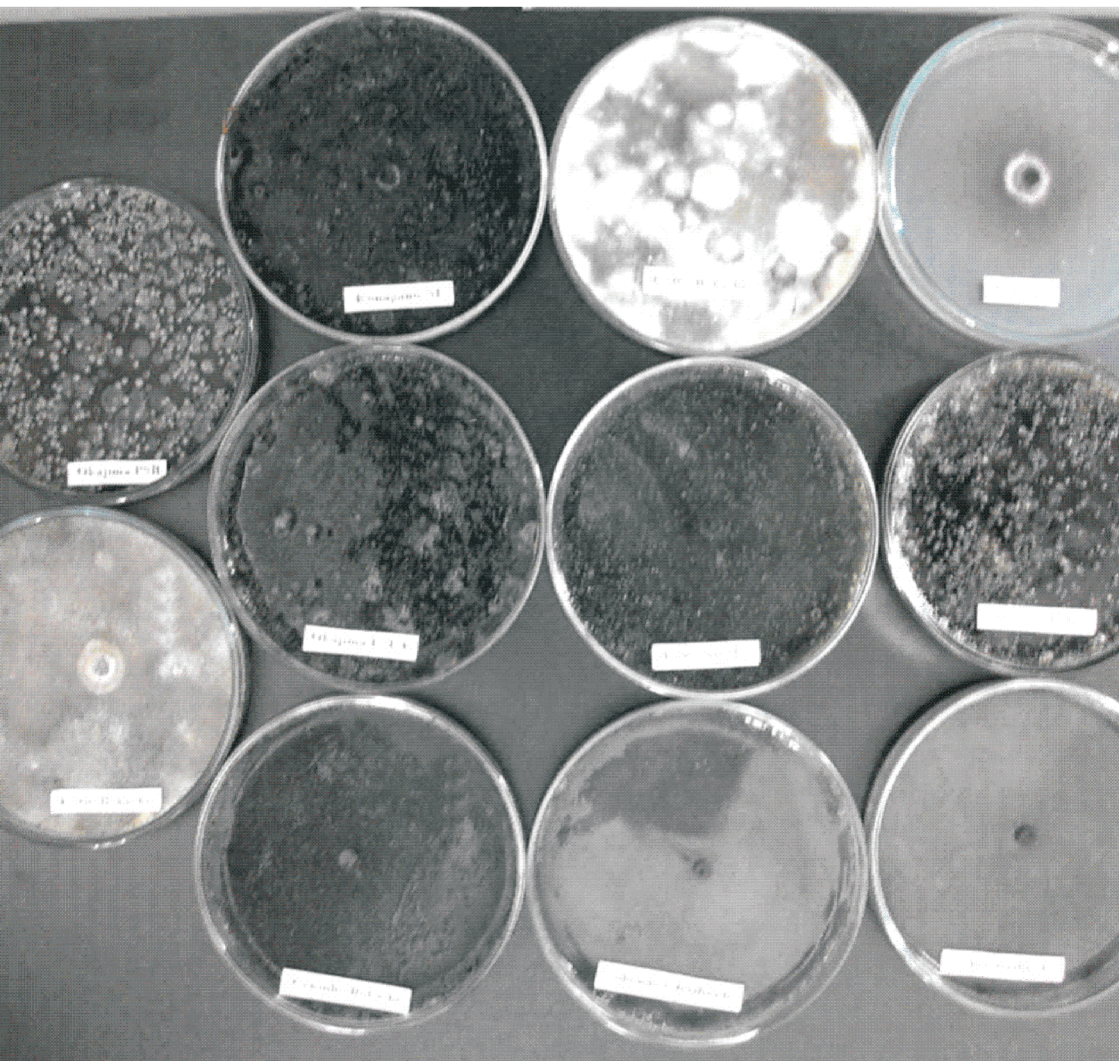




Controle Alternativo da Podridão-das-raízes da Pimenteira-do-reino com Microrganismo Eficazes (EM)



ISSN 1676-5265

Junho, 2006

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 55

Controle Alternativo da Podridão-das-raízes da Pimenteira-do-reino com Microrganismos Eficazes (EM)

Maria de Lourdes Reis Duarte

Waléria Guerreiro Lima

Elizabeth Ying Chu

Michinori Konagano

Fernando Antônio Beviláqua de Albuquerque

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, Pará
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n.
Caixa Postal 48. CEP 66095-100 – Belém, PA.
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
www.cpatu.embrapa.br
sac@cpatu.embrapa.br

Comitê Local de Editoração

Presidente: *Gladys Ferreira de Sousa*
Secretário-Executivo: *Moacyr Bernardino Dias-Filho*
Membros: *Izabel Cristina Drulla Brandão, José Furlan Júnior, Lucilda Maria Sousa de Matos, Maria de Lourdes Reis Duarte, Vladimir Bonfim Souza, Walkymário de Paulo Lemos*

Revisores Técnicos

Aristóteles Pires de Matos – Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical
Bernardo de Almeida Halfeld Vieira – Embrapa Roraima
Francisco das Chagas Freire – Embrapa Agroindústria Tropical
Rivaldo Coelho Gonçalves – Embrapa Acre

Supervisão editorial: *Regina Alves Rodrigues*
Supervisão gráfica: *Guilherme Leopoldo da Costa Fernandes*
Revisão de texto: *Regina Alves Rodrigues*
Normalização bibliográfica: *Célia Maria Lopes Pereira*
Editoração eletrônica: *Euclides Pereira dos Santos Filho*
Foto da capa: *Maria de Lourdes Reis Duarte*

1ª edição

Versão eletrônica (2006)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n^o 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Amazônia Oriental**

Duarte, Maria de Lourdes Reis.

Controle alternativo da podridão-das-raízes da pimenteira-do-reino com microrganismos eficazes (EM) / por Maria de Lourdes Reis

Duarte... [et al.].- Belém,PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2006.

22p. : il. : 21cm (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 55).

ISSN 1676-5265

1. Pimenta-do-reino – Doença. 2. Podridão-das-raízes. I.Título. II.Série.

CDD: 633.84

© Embrapa 2006

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados	13
Discussão	17
Referências	21

Controle Alternativo da Podridão-das-raízes da Pimenteira-do-reino com Microrganismos Eficazes (EM)¹

*Maria de Lourdes Reis Duarte*²

*Waléria Guerreiro Lima*³

*Elizabeth Ying Chu*⁴

*Michinori Konagano*⁵

*Fernando Antônio Beviláqua de Albuquerque*⁶

Resumo

O sistema de produção da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) caracteriza-se pelo cultivo intensivo em que altas doses de fertilizantes químicos e aplicações de fungicidas, inseticidas e herbicidas asseguram produções que variam de três a cinco toneladas, por hectare. Sistemas altamente tecnificados trazem efeitos danosos ao solo como a perda das propriedades físicas e químicas, além da destruição dos macro e microrganismos. Esses solos têm sido recuperados com a aplicação de culturas mistas de microrganismos benéficos (EM). A fim de estabelecer métodos alternativos a baixo custo, para agricultores familiares, oito diferentes compostos inoculados com EM-4, EM-5, PSB ou NutriHumus foram testados *in vitro* e em casa-de-vegetação, com o objetivo de determinar o efeito na redução da incidência da podridão-das-raízes causada por *Fusarium solani* f. sp. *piperis*.

¹Trabalho financiado pelo Fundo de Ciência e Tecnologia (Funtec), Secretaria de Estado de Ciência Tecnologia e Meio Ambiente, PA (Sectam).

²Eng. Agrôn., Ph.D., Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.
E-mail: mlourdes@cpatu.embrapa.br

³Eng. Agrôn., Aluna do curso de Mestrado de Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bolsista do CNPq.

⁴Eng. Agrôn., M.Sc., Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.
E-mail: ewing@cpatu.embrapa.br

⁵Produtor-parceiro, Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açu, Tomé-Açu, PA.
E-mail: camtaproduto@amazon.com.br

⁶Eng. Agrôn., M.Sc., Viveirista. E-mail: ledacristina661@hotmail.com

Os resultados *in vitro* mostraram que *bokashi Form-7*, *bokashi Form-1* e *bokashi Form-4* inibiram o crescimento do patógeno nas placas contendo bokashi-ágar. Porções do substrato retirados às distâncias de 1,5, 3,0 e 4,5 cm do disco de cultura não originaram colônias. Nos tratamentos *bokashi Form-2*, *bokashi Form-6*, *bokashi Form-3* e *bokashi Form-5* só houve formação de colônias a partir de porções de substrato retiradas a 1,5 cm. Nos tratamentos Solo estéril, Solo não estéril e Composto houve formação de colônias a partir de substrato coletado nas três distâncias. Em plantas cultivadas em solo infestado sem adição de bokashi e com adição de Composto, sintomas da doença só foram observados 17 dias após o plantio das mudas em solo infestado. Nos demais tratamentos não houve manifestação de sintomas de amarelecimento nem de apodrecimento das raízes.

No entanto, o patógeno foi recuperado de tecidos de plantas sem sintomas dos tratamentos *bokashi Form-6*, *bokashi Form-3*, *bokashi Form-5* e *bokashi Form-2*. A densidade populacional do patógeno foi reduzida em mais de 90% em relação ao tratamento testemunha.

Os resultados permitem concluir que a incorporação de bokashi ao solo reduziu a densidade populacional de *F. solani* f. sp. *piperis*, resultando em baixo índice de incidência de podridão-das-raízes em mudas de pimenteira-do-reino, tornando o solo condutivo em supressivo.

Termos para indexação: Microrganismos benéficos, *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, *Piper nigrum*, pimenteira-do-reino, compostos orgânicos, bokashi.

Alternate Control of Black Pepper Root rot With Effective Micro-organisms (EM)

Abstract

Intensive crops may cause harmful effects to chemical, physical and microbiological soil properties. Many of those soils have been recovered by amending organic compounds fermented by effective micro-organisms (EM), named bokashi. In order to establish alternate control measures, at low costs, to small farmers, eight different organic compounds fermented by EM-4, EM-5, PSB or NutriHumus were in vitro and greenhouse tested against *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, causal agent of black pepper root rot disease.

The in vitro results have shown that *bokashi Form-7*, *bokashi Form-1* and *bokashi Form-4* inhibited the pathogen growth after cultivation on bokashi-agar plates. Blocks of bokashi-agar taken at 1.5 cm, 3.0 cm and 4.5 cm distant from original culture disk did not form pathogen colonies. In *bokashi Form-2*, *bokashi Form-6*, *bokashi Form-3* and *bokashi Form-5* only from bokashi-agar blocks taken at 1.5 cm fungus colony were formed. However, in sterile and non sterile soils and Compound fungus colonies grew from bokashi-agar blocks taken at all distances. On pepper plants grown in infested and non amended soil and, in Compound, disease symptoms appeared 17 days after planting pepper plants in infested soil. In the other treatments pepper plants showed neither yellowish nor root rot. Nevertheless, the pathogen was recovered from symptomless plant tissues of the *bokashi Form-6*, *bokashi Form-3*, *bokashi Form-5* and *bokashi Form-2* treatments. The population density of the pathogen has been reduced in more than 90% in relation to the control treatment.

In view of the results we conclude that in soil amended with bokashi, *F. solani* f. sp. *piperis* population density was reduced resulting in low root rot disease incidence, turning a conducive soil into suppressive one.

Index terms: Beneficial micro-organisms, *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, *Piper nigrum*, black pepper, organic compounds, bokashi.

Introdução

A falta de fontes de resistência a doenças radiculares causadas por *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (podridão-das-raízes), que afeta a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), estimulou o desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de testar diferentes práticas de manejo da cultura que permitissem ao produtor obter lucro, mesmo cultivando genótipos suscetíveis.

Assim, um conjunto de práticas culturais incluindo uso de mudas saudáveis, tratamento preventivo de estacas com fungicidas, uso de cobertura morta, adubação balanceada aplicada em cobertura, manutenção da área apenas roçada, irrigação no período seco e plantio de árvores de valor comercial bem espaçadas vem sendo recomendado visando reduzir a incidência das doenças e aumentar o ciclo produtivo dos pimentais (DUARTE, 2004).

Nenhuma das práticas agrícolas, isoladamente, reduz a incidência da doença, mas a adoção dessas práticas de manejo tem aumentado o ciclo de vida das pimenteiras por mais de 5 anos. Isso não significa que as plantas tenham adquirido resistência. Casos de podridão das raízes surgirão em menor intensidade porque todos os genótipos de pimenteira cultivados são suscetíveis, principalmente à podridão-das-raízes ou fusariose. No caso da murcha-amarela, com exceção das cultivares Guajarina e Bento, as demais cultivares têm-se comportado como resistentes, em condições de campo (DUARTE et al. 2002a).

Desde que a pimenteira-do-reino se estabeleceu como cultura industrial, vem sendo cultivada em sistema intensivo, com cultivares produtivas plantadas a pleno sol, aderidas a postes de madeira, adubadas com altas doses de fertilizantes químicos e com controle de doenças, pragas e ervas daninhas. Essa agricultura altamente tecnificada traz efeitos danosos ao solo como a perda das propriedades físico-químicas das áreas cultivadas, além da destruição dos macro e microrganismos que agem na manutenção das boas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (CHAGAS; TOKESHI, 2006).

A inclusão de agricultores familiares na cadeia produtiva de pimenta-do-reino, assim como a procura por alimentos mais seguros, criou a necessidade de se conduzir pesquisas para se estabelecer métodos alternativos de baixo custo para o controle de doenças, aproveitando os resíduos orgânicos da propriedade e da indústria rural, inoculados com misturas de microrganismos benéficos como EM-4, EM-5 e outros. Para substituir os fertilizantes químicos e agrotóxicos têm sido utilizados três preparos biológicos, produzidos na unidade de pesquisa da Fundação Mokiti Okada, em Ipeúna, SP. São soluções líquidas contendo culturas mistas de microrganismos denominadas EM-Bokashi, EM-4 e EM-5. EM-Bokashi serve como composto orgânico, contém microrganismos que melhoram a estrutura do solo, mantendo, por meio de competição, os microrganismos necessários para a fixação de nitrogênio, além de proporcionar melhora nas características físicas e químicas do solo. EM-4 é usado como herbicida e EM-5 serve como fungicida e inseticida. Ambos EM-4 e EM-5 agem por meio da competição com outros microrganismos que não interagem positivamente com as plantas, entre os quais os patógenos (HIGA; WIDIDANA, 1989; ORTEGA et al. 2006). Esses compostos são usados como inoculantes para aumentar a biodiversidade e o número de microrganismos naturais benéficos do solo e da planta integrando o equilíbrio microbiológico (CHAGAS; TOKESHI, 2006). Camada de húmus retirada de áreas de mata virgem e folhas decompostas de bambuzeiros têm também sido usadas como inoculantes, em fermentação aeróbia.

No presente trabalho são apresentados os resultados dos ensaios realizados com diferentes fontes de compostos orgânicos inoculados com microrganismos benéficos, conhecidos popularmente como bokashi, na redução da incidência da podridão-das-raízes da pimenteira-do-reino, em condições semicontroladas.

Material e Métodos

Formulação dos compostos orgânicos – Os compostos orgânicos usados foram preparados pelos produtores parceiros e disponibilizados para uso em testes in vitro e em casa-de-vegetação. Foram testados os seguintes compostos: *bokashi Form-1* (torta de mamona, 25%; torta de babaçu, 25%; farelo de arroz, 25%; farinha de osso, 7,5%; farinha de caranguejo, 7,0%; farinha de chifre, 12,5%; EM-4, 0,1%; melação de cana, 0,2%;

água, 25%), bokashi Form-2 (farelo de arroz, 60%, torta de mamona ou esterco de galinha puro, 20%; farinha de osso, 10%; farinha de chifre, 10%; EM-4, 0,3%; açúcar, 0,3%; água, 30%), *bokashi Form-3* (farelo de arroz, 30%; torta de mamona, 25%; farinha de osso, 16%; termofosfato, 7,3%; Cloreto de potássio, 4,8%; MAP, 3%; uréia, 3%; carvão em pó, 12%; microrganismos benéficos EM-4, 0,4%; água, 14,5% - 17%), *bokashi Form-4* (farelo de arroz, 30%; torta de mamona, 25%; farinha de osso, 16%; termofosfato, 7,3%; Cloreto de potássio, 4,8%; MAP, 3%; uréia, 3%; carvão em pó, 12%; microrganismos benéficos EM-5, 0,4%; água, 14,5% - 17%), *bokashi Form-5* (farelo de arroz, 30%; torta de mamona, 25%; farinha de osso, 16%; termofosfato, 7,3%; Cloreto de potássio, 4,8%; MAP, 3%; uréia, 3%; carvão em pó, 12%; microrganismos benéficos PSB, 0,4%; água, 14,5% - 17%), *bokashi Form-6* (formulação comercial contendo: nitrogênio, 0,3%; matéria orgânica, 60%; umidade, 12%; pH=6,0; C/N, 12:1; CTC, 640 mmolc/kg), *bokashi Form-7* (cascas de frutos de café fermentado pela ação de NutriHumus, em fermentação aeróbia) e Composto (mistura de serragem curtida, casca de frutos de cacau e de cupuaçu, restos de capina enriquecida com NPK e termofosfato, de proporção não determinada, não fermentada). As porcentagens dos inoculantes, melaço ou açúcar e água foram calculados considerando o volume total da matéria orgânica e adubos químicos.

Produção do inóculo – Segmentos de papel de filtro impregnados com suspensão de esporos de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, isolado de Tomé-Açu, com grande habilidade de produzir pigmentos vermelhos (altamente patogênica) (DUARTE; ARCHER, 2003) foram transferidos para placas de Petri contendo 20 mL de ágar-água a 1,5%, para verificação da pureza das colônias. Três dias após, pontas de hifas foram transferidas para placas contendo BDA (batata-dextrose-ágar) e incubadas por 10 dias a 25 °C, sob 12 h de iluminação. Para infestação do solo, o inóculo foi produzido em meio de bran (constituído de farelo de trigo e solo na proporção de 3:1, com 30% de umidade). Cerca de 300 mL de meio de bran foram transferidos para erlenmeyer de 500 mL e esterilizado durante 60 minutos, 3 vezes. Discos de 10 mm de diâmetro, retirados da periferia de colônias produzidas em BDA, por 10 dias, foram transferidos para erlenmeyers contendo o meio de bran e incubados em ambiente de laboratório, por 21 dias.

Efeito de diferentes bokashi in vitro – Cerca de 20 g dos 8 compostos orgânicos foram peneirados, colocados em placas de Petri de 90 mm de diâmetro e umedecidos com água destilada para formar uma massa compacta com superfície nivelada, vertendo-se em seguida, 30 ml de ágar-água a 1,5%, liqüefeito, sobre a superfície dos compostos. Solo estéril e não estéril, infestados e sem adição de bokashi, serviram de testemunha. Um disco de 5 mm de diâmetro retirado da periferia de colônias de *Fusarium solani* f. sp. *Piperis*, com 10 dias de desenvolvimento, foi transferido para o centro das placas. As placas foram colocadas dentro de sacos de plástico transparente (para conter a emissão de gases) e incubadas a 25 °C, sob 12 h de iluminação, em câmara de crescimento. Cada tratamento foi repetido três vezes. Após 3 dias, foram retiradas porções das misturas bokashi-ágar, distantes 1,5, 3,0 e 4,5 cm do disco de cultura original e transferidas para placas de Petri contendo BDA (batata-dextrose-ágar). A avaliação foi realizada pela contagem do número de colônias de *F. solani* f. sp. *piperis* recuperadas das placas dos diferentes tratamentos.

Efeito de diferentes bokashi em casa-de-vegetação – Foram usados os seguintes métodos:

- Produção de mudas – Mudas de pimenteira-do-reino, cultivar Cingapura, foram pré-enraizadas em casca de arroz carbonizada e transplantadas para sacos de plástico preto, cheios com terra preta enriquecida (matéria orgânica, NPK e calcário dolomítico) e mantidas em telado, por 6 meses.
- Determinação da umidade do solo – Vasos de plástico foram cheios com dois litros de solo enriquecido e regados para atingir a capacidade de campo. Amostras do solo, retiradas dos vasos de cada tratamento, foram coletadas e secas ao ar até atingir peso constante, a fim de se calcular a quantidade de inóculo, por grama de solo.
- Incorporação do bokashi e infestação do solo – Vasos com capacidade de 1,3 L foram cheios com solo enriquecido. Cinquenta mL de cada um dos bokashi foram incorporados e incubados por 2 semanas para permitir o estabelecimento dos microrganismos benéficos. Após esse período, 50 mL de inóculo/L de solo foram incorporados ao substrato (solo + bokashi) e incubados por 1 semana. Em seguida, as mudas de pimen-

teira-do-reino foram transplantadas e mantidas no telado até o aparecimento de sintomas visíveis. Foram testados os tratamentos *bokashi Form-1*, *bokashi Form-2*, *bokashi Form-3*, *bokashi Form-4*, *bokashi Form-5*, *bokashi Form-6*, *bokashi Form-7*, Composto, Solo infestado sem adição de bokashi e Solo desinfestado, em um desenho experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. O efeito dos bokashi foi avaliado pela contagem de plantas sadia e afetadas, quando 50% das plantas do tratamento testemunha exibiram sintomas da doença, por meio do registro do peso verde e seco das plantas e da recuperação de colônias do patógeno dos tecidos das hastes das plantas infectadas, por tratamento. Os dados de peso seco foram avaliados pela análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância (ZAR, 1999).

- Determinação da população de *F. solani* f. sp. *piperis*, no solo - Amostras de 10 g de solo, por tratamento, foram coletadas e diluídas na base 10, até 10^{-5} . As soluções do solo foram semeadas em placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura de Komada (1976) modificado (K_2HPO_4 , 1,0 g; KCl, 0,5 g; $MgSO_4$, 0,5 g; Fe-EDTA, 0,01 g; L-asparagina, 2,0 g; sucrose, 20,0 g; ágar, 12 g; água, 1L; PCNB, 0,5 g; Colato de sódio, 0,3 g; $Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$) e após 3 dias, foi realizada a contagem do número de colônias de *F. solani* f. sp. *piperis*, por grama de solo.

Resultados

Ação de bokashi no crescimento de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* in vitro

Três dias após a transferência de discos de colônias para placas de Petri contendo bokashi-ágar observou-se que nos tratamentos *bokashi Form-1*, *bokashi Form-7*, *bokashi Form-6* e *bokashi Form-4* não foram formadas colônias visíveis do patógeno a partir do disco de cultura. Nos tratamentos *bokashi Form-5*, *bokashi Form-3* e *bokashi Form-2* o fungo só cresceu na área próxima do disco de cultura.

A transferência de porções de substrato retiradas a 1,5, 3,0 e 4,5 cm distantes do disco de cultura original para placas de Petri contendo BDA mostrou que nos tratamentos Solo estéril infestado, Solo não estéril infestado e Composto, colônias do patógeno foram recuperadas das três

áreas distantes do disco de cultura. Nenhum outro microrganismo foi recuperado além de *F. solani* f. sp. *piperis*. Nos tratamentos *bokashi Form-1*, *bokashi Form-6*, *bokashi Form-4* e *bokashi Form-7* o patógeno não foi recuperado nem próximo do disco de cultura. Nesses tratamentos houve crescimento de uma superpopulação de microrganismos presentes na mistura de microrganismos que impediu o crescimento do patógeno, o que explica a contenção da colônia do patógeno na placa (Fig. 1). Em *bokashi Form-3*, *bokashi Form-5* e *bokashi Form-2* o patógeno só foi recuperado à distância de 1,5 cm do disco de cultura (Tabela 1).

Foto: Maria de Lourdes Reis Duarte.

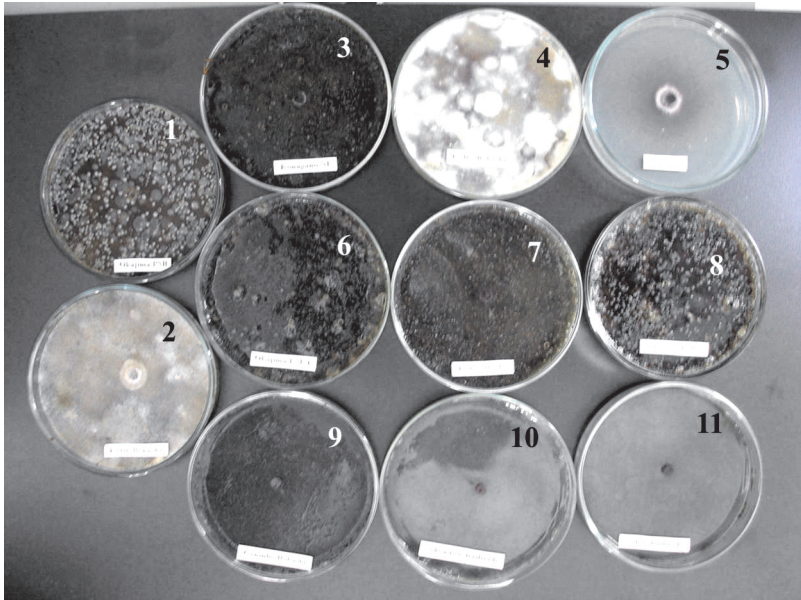


Fig. 1. Crescimento de colônias de *F. solani* f. sp. *piperis* (Fsp) a partir de discos de colônias cultivadas em placas com diferentes formulações de bokashi + ágar, três dias após. 1. *bokashi Form-5*; 2. *bokashi Form-6*; 3. Composto; 4. *bokashi Form-2*; 5. Controle (Fsp); 6. *bokashi Form-3*; 7. *bokashi Form-1*; 8. *bokashi Form-4*; 9. *bokashi Form-7*; 10. Solo não esterilizado; 11. Solo esterilizado.

Tabela 1. Crescimento de colônias de *F. solani* f. sp. *piperis* recuperadas a 1,5, 3,0 e 4,5 cm distantes do disco de cultura, cultivado em placas contendo diferentes bokashi.

Tratamentos	Crescimento de colônias de <i>F. solani</i> f. sp. <i>piperis</i>		
	1,5 cm	3,0 cm	4,5 cm
<i>Solo estéril</i>	+	+	+
<i>Solo não estéril</i>	+	+	+
<i>Composto</i>	+	+	+
<i>Bokashi Form-1</i>	-	-	-
<i>Bokashi Form-2</i>	+	-	-
<i>Bokashi Form-3</i>	+	+	-
<i>Bokashi Form-4</i>	-	-	-
<i>Bokashi Form-5</i>	+	-	-
<i>Bokashi Form-5</i>	-	-	-
<i>Bokashi Form-7</i>	-	-	-

+ = presença de crescimento.

- = ausência de crescimento.

Efeito de diferentes bokashi no controle da podridão-das-raízes

Observações diárias das plantas dos diferentes tratamentos mostraram que os primeiros sintomas de amarelecimento foram observados nos tratamentos Solo estéril infestado e Composto, 17 dias após o transplante de mudas da cultivar Cingapura. Aos 21 dias, todas as plantas desses tratamentos estavam mortas. O exame do sistema radicular mostrou ausência de radículas e raízes apodrecidas. A podridão se estendeu até 9,0 cm acima do solo. Nos tratamentos *bokashi Form-2*, *bokashi Form-6*, *bokashi Form-5* e *bokashi Form-3*, os sintomas foram observados a partir dos 25 dias e aos 27 dias após registraram-se índices de incidência da ordem de 80%, 60% e 20%, respectivamente (Tabela 2). Nesses tratamentos foram observados apenas radículas apodrecidas com ausência de lesões nas raízes e base da planta. Nos tratamentos Solo não infestado, *bokashi Form-1*, *bokashi Form-4* e *bokashi Form-7* não foram observados sintomas nem no sistema radicular nem na parte aérea. No

entanto, o patógeno foi recuperado de tecidos de plantas sem sintomas dos tratamentos *bokashi Form-6*, *bokashi Form-3*, *bokashi Form-5* e *bokashi Form-2*. Nos tratamentos mais eficientes a placa foi colonizada por bactérias, actinomicetos e por *Trichoderma* spp. (Fig. 2). A densidade populacional do patógeno foi reduzida em mais de 90% em relação ao tratamento testemunha.

Tabela 2. Manifestação de sintomas em mudas de pimenteira-do-reino cultivadas em solo infestado com *F. solani* f. sp. *piperis*, presença de lesão na haste, peso da massa seca e recuperação de colônias do patógenos dos tecidos infectados (média de 3 repetições).

Tratamentos	Aparecimento dos sintomas (dias)	Lesão na haste (cm)	Peso seco (g)	Recuperação do patógeno
<i>Solo não infestado</i>	-	-	9,64 cd	-
<i>Solo infestado</i>	17	8,70	4,56 f	+++
<i>Composto</i>	17	6,12	7,76 e	+++
<i>Bokashi Form-1</i>	-	-	11,55 ab	-
<i>Bokashi Form-2</i>	25	-	8,71 de	+
<i>Bokashi Form-3</i>	25	-	10,28 bcd	+
<i>Bokashi Form-4</i>	-	-	12,51 a	-
<i>Bokashi Form-5</i>	25	-	10,93 abc	+
<i>Bokashi Form-6</i>	25	-	9,70 cd	++
<i>Bokashi Form-7</i>	-	-	12,41 a	-

- = ausência de crescimento

+ = recuperação em 30% das plantas

++ = recuperação em 60% das plantas

+++ = recuperação em 100% das plantas.

Houve diferenças muito significativas no peso seco das plantas dos diferentes tratamentos ($p < 0,01$). Os maiores teores de massa seca foram registrados nos tratamentos *bokashi Form-4*, *bokashi Form-7* e *bokashi Form-1* seguido de *bokashi Form-5* e quanto menor o peso seco maior a intensidade de colonização dos tecidos (Tabela 2).

Foto: Maria de Lourdes Reis Duarte.

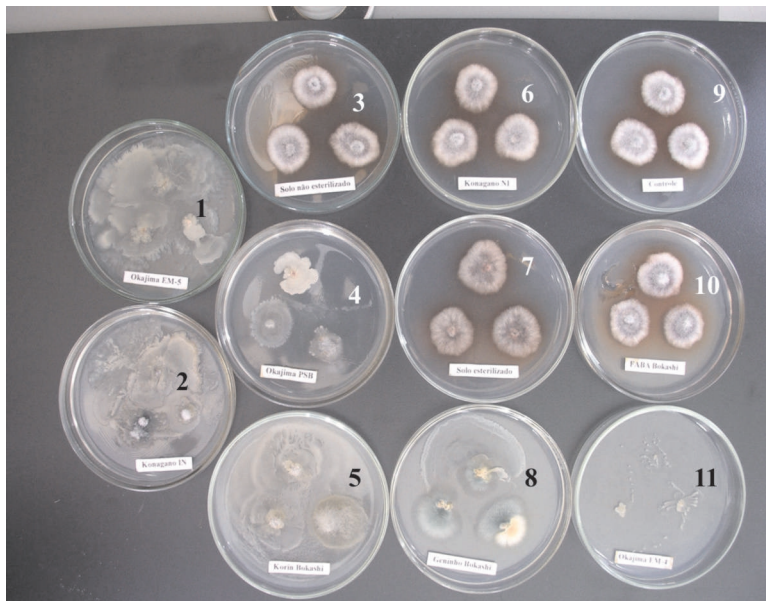


Fig. 2. Placa colonizada por bactérias, actinomicetos e por *Trichoderma* spp.

Densidade populacional de *F. solani* f. sp. *piperis*

Três dias após a semeadura de solução do solo diluída em meio de Komada modificado, ocorreu uma redução drástica na população do patógeno no solo, após 34 dias de incorporação dos bokashi (Tabela 3).

O registro da densidade populacional de *F. solani* f. sp. *piperis* mostrou maior número de propágulos/g de solo, no tratamento Solo infestado, seguido de Composto. Nos melhores tratamentos a redução da população do patógeno, no solo, foi superior a 90%.

Discussão

A aplicação de resíduos orgânicos, tais como esterco animal, tortas vegetais, restos de cultura, adubação verde e vários resíduos urbanos, no solo, pode suprimir, pelo menos temporariamente, a atividade biológica de patógenos do solo (HIGA, 1993).

Tabela 3. Redução da população de *F. solani* f. sp. *piperis* em solo com adição de diferentes formulações de bokashi (Média de 5 repetições).

Tratamentos	Densidade (cel/g de solo) ¹	Redução da população (%)
<i>Solo não infestado</i>	-	-
<i>Solo infestado (SI)</i>	5,6 x 10 ⁴ ± 0,13	0,0
<i>SI + Composto</i>	2,0 x 10 ⁴ ± 0,30	70,0
<i>SI + bokashi Form-1</i>	3,9 x 10 ³ ± 0,07	93,3
<i>SI + bokashi Form-2</i>	5,8 x 10 ³ ± 0,07	89,7
<i>SI + bokashi Form-3</i>	3,6 x 10 ³ ± 0,42	93,6
<i>SI + bokashi Form-4</i>	5,5 x 10 ³ ± 0,02	90,2
<i>SI + bokashi Form-5</i>	1,0 x 10 ³ ± 0,02	97,5
<i>SI + bokashi Form-6</i>	6,9 x 10 ³ ± 0,11	87,7
<i>SI + bokashi Form-7</i>	3,0 x 10 ³ ± 0,09	94,6

¹Os dados representam a média ± desvio padrão.

Na presente pesquisa a incorporação de diferentes formulações de compostos inoculados com microrganismos benéficos (bokashi), em solos infestados reduziu a população de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* e a incidência da podridão-das-raízes, em mudas de pimenteira-do-reino.

Nas formulações com maior teor de matéria orgânica como *bokashi Form-1*, *bokashi Form-4* e *bokashi Form-7*, o crescimento de *F. solani* f. sp. *piperis* nas placas com bokashi-ágar foi contido pela grande população de microrganismos benéficos (Fig. 1) e (Tabela 1).

Essa tendência foi confirmada quando os bokashi foram incorporados antes da infestação do solo com o patógeno. O aumento da população de microrganismos benéficos manteve a densidade populacional do patógeno em nível insuficiente ($x \cdot 10^3$ cel/g de solo) para induzir sintomas de podridão das raízes nas plantas de todos os tratamentos com incorporação de bokashi. Só houve manifestação de sintomas nos tratamentos onde a densidade populacional de *F. solani* f. sp. *piperis* era de $x \cdot 10^4$ cel/g de solo, indicando ser essa densidade populacional suficiente

para iniciar o processo de infecção. De acordo com Y. Nomura⁷, em solos condutivos, a população de espécies de *Fusarium* spp é estimada em $x \cdot 10^4$ cel/g de solo. Esse fato poderia explicar a falta de manifestação de sintomas em plantas de pimenteira-do-reino nos tratamentos onde a densidade da população final era $x \cdot 10^3$ cel/g de solo, causada, provavelmente, pelo aumento da população de fungos antagônicos, após a incorporação dos bokashi. De acordo com Park (1968), o declínio da população de fungos patogênicos, no solo, ocorre a uma taxa logarítmica quando estes se encontram em um ambiente desfavorável, não havendo meios de se estabelecer, acuradamente, a duração da longevidade total dessa população.

De isolamentos realizados a partir dos tecidos das plantas, colônias do patógeno só foram recuperadas dos tratamentos *bokashi Form-6*, *bokashi Form-3*, *bokashi Form-5* e *bokashi Form-2*, mesmo de plantas que não exibiam lesões nas raízes ou amarelecimento da folhagem. O efeito benéfico de *bokashi Form-1* na redução da murcha amarela da pimenteira-do-reino (*Fusarium oxysporum*) observado por Duarte et al. (2002b).

O menor peso seco apresentado pelas plantas dos tratamentos Composto e *bokashi Form-6* mostra que a colonização do patógeno interferiu na absorção de água e nutrientes, confirmando as observações de Fukutomi et al. (1981).

Segundo os autores, durante a colonização, o patógeno estimula a produção de uma substância gelatinosa que obstrui os vasos impedindo o livre transporte de água e nutrientes.

A redução de mais de 90% da população de *F. solani* f. sp. *piperis* nos solos incorporados com diferentes bokashi explica o baixo índice de doenças nas plantas desses tratamentos, mostrando que o uso de bokashi como inoculante pode transformar um solo condutivo em supressivo (TOKESHI et al. 1993). Segundo Higa (1993), a incorporação de resíduos orgânicos inoculados com microrganismos benéficos resulta na redução do índice de doenças do solo, porque esses resíduos introduzem populações externas de microrganismos com capacidade fisiológica variável.

⁷Informação prestada pelo Dr. Y. Nomura, do National Agricultural Research Center, 3-1-1 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8666, Japan aos autores deste trabalho.

A quantidade e as fontes de matéria orgânica tiveram efeito no controle da doença. Formulações de bokashi contendo mais de seis fontes de matéria orgânica como *bokashi Form-1* e *bokashi Form-4* foram mais eficientes do que *bokashi Form-2*. A quantidade de farelo de arroz também parece ter influenciado a qualidade do bokashi. *Bokashi Form-2* continha 60% de farelo de arroz, enquanto *bokashi Form-2* e *bokashi (Form-3, Form-4 e Form-5)* continham 25% e 30% de farelo de arroz, respectivamente. De acordo com Moreira et al. (1993), o farelo de arroz acelera a compostagem do resíduo reduzindo a quantidade de carbono orgânico.

Os resultados obtidos permitem concluir que, nas condições estudadas, a adição de compostos inoculados com culturas mistas de microrganismos reduziu a densidade populacional de *F. solani* f. sp. *piperis*, no solo, resultando em baixo índice de incidência da podridão-das-raízes, em mudas de pimenteira-do-reino e tornando o solo condutivo, em supressivo.

Referências

CHAGAS, P. R. R.; TOKESHI, H. Produção orgânica usando-se microrganismos benéficos (EM) no controle de pragas e doenças. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 3., 2006, Belém, PA. **Anais...**Belém: Embrapa Amazônia Oriental: SEBRAE, 2006. p.82-95.

DUARTE, M. L. R. **Cultivo da pimenteira-do-reino na Região Norte**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 185p. (Embrapa Amazônia Oriental. Sistemas de produção, 1).

DUARTE, M. L. R.; ALBUQUERQUE, F. C. A.; COSTA, A. P. D.; POLTRONIERI, L. S. **Cultivares de pimenteira-do-reino resistentes à murcha-amarela (*Fusarium oxysporum*)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002a, 3p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 78).

DUARTE, M. L. R.; PESSOA, D. N.; ALBUQUERQUE, F. C. Efeito de compostos orgânicos no controle de *Fusarium oxysporum* em casa-de-vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.104-105, 2002b. Suplemento.

DUARTE, M. L. R.; ARCHER, S. A. In vitro toxin production by *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.239-245, 2003.

FUKUTOMI, M.; HIRAKATA, K.; HAMADA, M. Studies on stem rot and root rot diseases of black pepper: (4) Anatomical observations on the distribution of the hypha of the pathogenic fungus invading tissues and blockage of vessel cells. **Fitopatologia Brasileira**, v.7, p.139, 1981. Suplemento.

HIGA, T.; WIDIDANA, G. N. Concepts and theories of effective microorganisms. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON KYUSEI NATURE FARMING, 1., 1989, Khon Kaen, Thailand. **Proceedings...**Khon Kaen: Khon Kaen University, 1989, p.118-124.

HIGA, T. Microrganismos eficazes: seu papel da agricultura natural messiânica e na agricultura sustentável. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL MESSIÂNICA, 3., 1993, Santa Barbara, CA. **Anais...**Santa Barbara, 1993. p.6-11.

KOMADA, H. Studies on the evaluation of activity of *Fusarium oxysporum*, *Fusarium wilt* pathogen of vegetable crops, in the soil. **Bulletin of Tokai-Kinki National Agriculture Experiment Station**, n.29, p.132-269, 1976. Em Japones com o resumo em Ingles.

MOREIRA, P. R.; ZANÃO FILHO, S.; MEDEIROS, R. R. Efeito da adição de farelo de arroz e microrganismos eficazes (EM.) na compostagem de lodo residual da industria de papel. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE AGRICULTURA NATURAL MESSIÂNICA, 3., 1993, Santa Barbara Califórnia. **Anais...**Santa Barbara: Fundação Mokiti Okada, 1993, p.85-92.

ORTEGA, E.; DELUQUI, K.; VASCONCELOS, M.; TEIRA, G. **Análise emergética do sistema agropecuário integrado Korin**. Disponível em: <www.fea.unicamp.br/docentes/ortega/livro/C-10-Korin.pdf> . Acesso em: 20 jun. 2006.

PARK, D. The ecology of terrestrial fungi. In: AINSWORTH, G. C.; SUSSMAN, A. S. (Ed.). **The fungi: an advanced treatise**. London: Academic Press, 1968, p.5-39.

TOKESHI, H.; LIMA, M. A. T.; JORGE, M. J. A. Efeitos dos microrganismos eficazes e adubação verde na produtividade do solo no Brasil. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL MESSIÂNICA, 3., 1993, Santa Barbara, CA. **Anais...**Santa Barbara, Califórnia: [s. n.], 1993. p.27-41.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999.

Embrapa

Amazônia Oriental

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



CGPE 6449