

ACÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS E DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVADORAS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.

INADA, F.H.¹; BENCHIMOL, R.L.²

A fusariose da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), que têm como agente causal *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, ao longo dos últimos 30 anos provocou a morte de cerca de 10 milhões de pimenteiras, sendo responsável pela redução da vida útil dos pimentais na região amazônica, de 12 a 15 anos para quatro a seis anos (Duarte & Albuquerque, 1986; Hamada et al., 1988).

As linhas de pesquisa desenvolvidas para o conhecimento e controle da fusariose da pimenta-do-reino nos últimos anos tem se concentrado basicamente no controle químico, na busca de cultivares resistentes e no manejo cultural, as quais vem se mostrando pouco eficientes ou onerosas. Portanto, existe a necessidade de desenvolver novos métodos de controle, entre os quais o controle biológico, através da utilização de microorganismos benéficos, o qual tem sido apontado como opção viável diante da biodiversidade inexplorada existente na Amazônia (Endo et al., 1997; Stein et al., 1996). Entre outros microorganismos que vem sendo testados como agentes de controle biológico, bactérias endofíticas capturadas do hipocótilo de seedlings de dicotiledôneas têm sido testadas com sucesso contra fungos de solo (KIJIMA, 1993). A adição de substâncias bioativadoras no solo, como a quitina, estimula a atividade de quitinases e de micróbios quitinolíticos no solo, em locais específicos de infecção no rizopiano ou filopiano (SUNFHEIN, 1992), levando à redução na população de patógenos de solo (BOLLER, 1986). O objetivo deste trabalho foi testar, em laboratório, a ação de bactérias endofíticas no controle biológico de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* e observar, em casa-de-vegetação, o efeito de bactérias endofíticas e da casca de caranguejo como fonte de quitina no crescimento de plântulas de pimenta-do-reino.

Foram realizados testes de antagonismo em laboratório, utilizando oito bactérias endofíticas (B24, B28, B30, B60, ENF-01, ENF-05, ENF-14 e ENF-16), das quais as quatro primeiras foram obtidos de tecido do hipocótilo de seedlings de pimenta-do-reino e as quatro últimas foram provenientes do laboratório de Biotecnologia de UFRPE, em Recife, PE. Foi instalado, em casa de vegetação, experimento para observar a ação de bactérias endofíticas no crescimento das plântulas de pimenta-do-reino originadas de sementes. Foram testadas oito bactérias (B24, B28, B59, B60, BIN937-A, BIN937-B, BINR-7 e BSE-34), das quais as quatro primeiras foram obtidas de tecidos do hipocótilo de seedlings de pimenta-do-reino e as quatro últimas foram cedidas pelo Dr. Joe Kloepper, da Universidade de Auburn, Alabama, EUA. Foram utilizadas plântulas de pimenta-do-reino com três meses de idade, as quais tiveram as raízes bacterizadas por cinco minutos com uma suspensão centrifugada (10^9 ufc/ml) de cada uma das bactérias. Como controle, foram mantidas plantas de pimenta-do-reino sem bacterização (TA). Após a bacterização, as plântulas foram colocadas em vasos contendo solo esterilizado com brometo de metila e constaram de cinco repetições por tratamento. Durante seis meses mediu-se a altura das plantas. Um outro experimento foi instalado, em casa de vegetação, para observar o efeito da casca de caranguejo no crescimento de plântulas de pimenta-do-reino originadas de sementes. Foram testadas quatro dosagens de casca de caranguejo moída (0.0, 0.5, 1.0 e 2.0%), denominadas Q0, Q1, Q2 e Q3, respectivamente, em solo esterilizado com brometo de metila, com três diferentes períodos de incubação (0, 4 e 8 semanas), denominados T0, T1 e T2, respectivamente. O tratamento testemunha correspondeu às plantas em solo sem casca de caranguejo e

¹ Bolsista do PIBIC/CNPq/EMBRAPA – Acadêmico do 5º semestre do curso de Engenharia Agrônômica

² Eng. Ag., M.Sc., EMBRAPA Amazônia Oriental – CP.48 – CEP. 66.017-970, Belém, PA

sem período de incubação. Durante seis meses foram feitas quatro medições da altura das plantas e a determinação da produção e alocação de biomassa aos 180 dias.

Entre os oito microorganismos testados em laboratório, utilizando-se o meio NYDA, cinco (B60, ENF-01, ENF-05, ENF-14 e ENF-16) apresentaram melhores resultados, inibindo o crescimento micelial de *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, em relação à testemunha (Tabela 1). Em casa-de-vegetação, as plantas que tiveram suas raízes bacterizadas apresentaram altura semelhante ou inferior à testemunha, aos 180 dias após a instalação do experimento. Isto indica que as bactérias testadas não atuaram como promotoras de crescimento (Tabela 2). Em relação ao efeito da casca de caranguejo, o tratamento que proporcionou maior crescimento em altura das plantas foi a adição de 0,5% da substância com 4 semanas de incubação (Tabela 3). A produção e alocação de biomassa das plantas de pimenta-do-reino do tratamento Q1T1 foi superior em relação aos demais tratamentos (Tabela 4).

Tabela 1 - Crescimento *in vitro* de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* na presença de bactérias endofíticas no meio de cultura NYDA, aos 16 dias.

Tratamento	Diâmetro da colônia de <i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>piperis</i> (mm)
Testemunha	79,8
B24	79,0
B28	76,8
B30	80,5
B60	65,7
ENF-01	31,7
ENF-05	38,6
ENF-14	39,6
ENF-16	34,1

Tabela 2 - Crescimento das plantas de pimenta-do-reino na presença de bactérias endofíticas

Tratamento	Altura da planta (cm)			
	30 dias	60 dias	90 dias	180 dias
TA	6,50	8,08	9,26	13,64
B60	6,76	8,32	9,34	9,52
B24	6,18	7,54	8,50	8,70
B28	6,70	7,84	8,60	8,72
BIN937-A	6,26	8,24	8,98	11,12
BIN937-B	6,54	7,46	8,08	9,08
BINR-7	5,96	7,46	7,74	8,50
BSE-34	6,38	7,30	8,74	8,90
B59	5,82	6,78	8,70	9,10

Tabela 3 - Crescimento das plantas de pimenta-do-reino em solo esterilizado contendo três dosagens de casca de caranguejo com três períodos de incubação.

Tratamento	Altura da planta (cm)			
	30 dias	60 dias	90 dias	180 dias
Q0T0	7,86	8,73	10,73	11,03
Q1T0	6,40	8,66	10,66	21,30
Q2T0	7,23	8,73	10,20	11,40
Q3T0	5,13	8,46	9,76	10,00
Q0T1	5,63	6,96	7,83	8,30
Q1T1	4,50	7,56	11,86	24,20
Q2T1	4,26	7,00	9,60	11,76
Q3T1	4,56	6,06	6,80	7,46
Q0T2	0,0	6,33	8,66	10,10
Q1T2	0,0	5,26	8,96	21,50
Q2T2	0,0	5,53	9,60	12,93
Q3T2	0,0	5,70	7,80	10,90

Tabela 4 - Produção e alocação de biomassa em mudas de pimenta-do-reino aos 180 dias.

Tratamento	Peso médio (g)			Peso total (g)
	Folha	Haste	Raiz	
Q0T0	0,267	0,2952	0,2346	0,7968
Q1T0	1,2586	0,8916	0,7793	2,9295
Q2T0	0,8266	0,5068	0,4399	1,7733
Q3T0	0,1666	0,2344	0,1833	0,5843
Q0T1	0,307	0,2124	0,2248	0,7442
Q1T1	1,3459	0,9068	0,7361	2,9888
Q2T1	0,5395	0,3751	0,4037	1,3183
Q3T1	0,1868	0,1917	0,1948	0,5733
Q0T2	0,6452	0,3802	0,4616	1,4870
Q1T2	1,0642	0,7176	0,5345	2,3163
Q2T2	0,6045	0,4555	0,3928	1,4528
Q3T2	0,4770	0,3728	0,3704	1,2202

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLLER, T. Chitinase: Uma defesa das plantas superiores contra patógenos. In: **Biological Control of Plant Pathogens**. HORNBY, D., ed., Redwood Press Limited, Melksham, Wiltshire. 1990. p.1-14.
- ENDO, T.; STEIN, R.L.B.; CHU, E.Y. & ALBUQUERQUE, F.C. Controle biológico da fusariose da pimenta-do-reino. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA E CUPUAÇU, 1., 1996, Belém, PA. **Anais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. 440p. p.395-406. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).
- HAMADA, M.; UCHIDA, T. & TSUDA, M. Ascospore dispersal of the causal agent of *Nectria* blight of *Piper nigrum*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, v. 54, p.303-308, 1988.
- KIJIMA, T.; GOUMA, H. & AMAGAI, M. Biological control of soil-borne diseases by bacteria association into interior tissues by means of hypocotyl cutting inoculation. In: **6th. International Congress of Plant Pathology**, Abstracts, 1993, Québec, CA. p.268.
- SUNFHEIN, L. Effect of chitinase encoding genes in biocontrol of *Pseudomonas* spp. In: **Biological Control of Plant Diseases**. E.C. Tjamos, G.C. Papavizas, and R.J. Cook, Eds., Plenum Press, New York, p.335-339. 1992.
- STEIN, R.L.B.; ALBUQUERQUE, F.C.; CHU, E.Y.; ABE, Z.; YONEYAMA, S. & ENDO, T. Levantamento de microorganismos potencialmente ativos contra *Fusarium solani* f.sp. *piperis*. IN: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvimento do trópico úmido. Belém: EMBRAPA-CPATU/JICA, 1996. p.109-124 (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 85).