

MA — D. N. P. E. A.
INSTITUTO DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS DO NORTE
CAIXA POSTAL, 48 — BELÉM - PARÁ

COMUNICADO TÉCNICO Nº 41

EFEITO DO HINOKITIOL SOBRE *Fusarium solani* f. *piperi* AGENTE DA PODRIDÃO DAS RAÍZES E SECAMENTO DOS RAMOS DA PIMENTA DO REINO (*Piper nigrum* L.)

Nobuhiro Mabuchi

Fernando Carneiro de Albuquerque

Maria de Lourdes Reis Duarte

BELÉM

1973

MA — D. N. P. E. A.
INSTITUTO DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS DO NORTE
CAIXA POSTAL, 48 — BELÉM - PARA

COMUNICADO TÉCNICO Nº 41

Em, 18/07/73

EFEITO DO HINOKITIOLO SOBRE *Fusarium solani* f. *piperi* AGENTE DA PO
DRIDÃO DAS RAÍZES E SECAMENTO DOS RAMOS DA PIMENTA DO REINO (*Piper*
nigrum L.)

Nobuhiro Mabuchi
Bioquímico colaborador do IPEAN
em cumprimento do programa do
Overseas Technical Cooperation
Agency (O.T.C.A.)

Fernando Carneiro de Albuquerque
Pesquisador em Agricultura do
IPEAN, Bolsista do Conselho Nacio
nal CNPq.

Maria de Lourdes Reis Duarte
Pesquisadora em Agricultura do
IPEAN Professora da F.C.A.P

BELÉM
IPEAN

1973

Mabuchi, Nobuhiro

Efeito do hinokitiol sobre Fusarium solani f. piperi agente da podridão das raízes e secamento dos ramos da pimenta do reino (Piper nigrum L.) Belém, IPEAN, 1973.

12p. 28cm (Comunicado técnico, 41)

1. Pimenta do reino. I. Albuquerque, Fernando Carneiro de. II. Duarte, Maria de Lourdes Reis. III. Brasil. Instituto de Pesquisa Agropecuária do Norte. IV. Série. V. Título.

CDD - 633.84

CDU - 633.84

S U M A R I O

	p.
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 - <u>MATERIAL E METODOS</u>	2
2.1 - TESTE "IN VITRO"	2
2.2 - DESINFECÇÃO DE MUDAS E ESTACAS	2
2.2.1 - <u>Mudas</u>	2
2.2.2 - <u>Estacas</u>	3
2.3 - ENSAIO EM VASOS	3
2.4 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO DE CANTEIRO PARA PLANTIO DE MUDAS.	4
2.5 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO NA COVA PARA O PLANTIO DE MUDAS ..	4
3 - <u>RESULTADOS</u>	4
3.1 - TESTE "IN VITRO"	4
3.2 - DESINFECÇÃO DE MUDAS E ESTACAS	5
3.2.1 - <u>Mudas</u>	5
3.2.2 - <u>Estacas</u>	5
3.3 - ENSAIO EM VASOS	5
3.4 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO DE CANTEIRO PARA PLANTIO DE MUDAS.	5
3.5 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO NA COVA PARA O PLANTIO DE MUDAS ..	6
4 - <u>DISCUSSÃO</u>	6
5 - <u>ANEXOS</u>	7
6 - <u>FONTES CONSULTADAS</u>	12

EFEITO DO HINOKITIOIOL SOBRE Fusarium solani f. piperi AGENTE DA PODRIDÃO DAS RAÍZES E SECAMENTO DOS RAMOS DA PIMENTA DO REINO (Piper nigrum L.)

SINOPSE: Foram feitos cinco ensaios com a substância Hinokitiol (B-Tuja plicin), visando o controle da Podridão das raízes e Secamento dos ramos da Pimenta do Reino causado por Fusarium solani f. piperi. Os ensaios compreenderam: ensaio "in vitro", tratamento de estacas e de mudas, desinfestação do solo em vasos, em canteiros e em covas para plantio de mudas de pimenta do reino. Em todos os ensaios o Hinokitiol mostrou-se eficiente no controle da moléstia. As concentrações mais eficazes foram 200ppm, para tratamento das estacas, 100ppm, para tratamento do solo de vasos; 100ppm, para tratamento do solo de canteiro e 1000 para solo da cova. O Hinokitiol na concentração 10000ppm, foi fitotóxico para a planta.

1 - INTRODUÇÃO

Na região Amazônica, a moléstia Podridão das raízes da pimenta do reino, causada por Fusarium solani f. piperi, tem dizimado inúmeras plantações desde 1958. Este patógeno, devido o alto índice de inóculo, precisamente na região de Mariquita, no Município de Tomé-Açu, adptou-se à disseminação aérea causando o secamento dos ramos das pimenteiras do reino. Até a presente data não existe medida eficiente para o controle da moléstia. Por este motivo várias substâncias continuam sendo avaliadas para serem empregadas como fungicida. Em 1936, foi fixado um cristal branco, descoberto pelos

Dr. Nozoe e Dr. Katsura, por meio da análise química do óleo de cipreste (Formosan cypress). Mais tarde, uma substância semelhante foi isolada de outro tipo de cipreste denominado Japanese (Japanese cypress). Independente disto, o Prof. Erdtman, da Universidade de Upsala, também separou por análise química de óleo de cedro refinado, um cristal branco, ácido. Através de trabalhos experimentais, foi confirmado que as substâncias isoladas dos ciprestes e do cedro vermelho eram iguais. (6.4).

O Hinokitiol foi usado pela primeira vez visando controle de enfermidade de plantas em 1970, em Tóquio (6.3), para controlar (Phytophthora fragariae) que afeta a cultura do morango (Fragaria vesca). Nesse mesmo ano, esta substância foi testada em mudas de pimenta do reino, em condições de casa de vegetação, visando controlar Fusarium solani f. piperi (6.3). Com os resultados destas experiências, foi idealizado o presente trabalho.

2 - MATERIAL E METODOS

2.1 - TESTE "IN VITRO"

Para o desenvolvimento do teste no laboratório, foi usado Hinokitiol cristalizado. A substância a ser testada foi adicionada ao meio de agar batatinha e dextrose contido em placas de petri, nas concentrações de 133ppm, 100ppm, e 50ppm. Após a solidificação do meio de cultura teste, foi efetuada a repicagem de culturas do patógeno com 10 dias, isolado da parte aérea de pimenteiras atacadas. Para cada tratamento foram feitas 5 repetições. A avaliação da eficiência do produto em relação às concentrações, foi feita 10 dias após a realização do teste.

2.2 - DESINFECÇÃO DE MUDAS E ESTACAS

2.2.1 - Mudas

Para este ensaio foram utilizadas 14 mudas enraizadas de pimenta do reino. Estas mudas foram retiradas dos vasos e em seguida lavadas em água corrente até o desprendimento total das partículas de solo das raízes. Em seguida, foram mergulhadas em solução

contendô Hinokitiol nas concentrações de 133ppm e 100ppm. Durante o preparo das soluções, uma parte do produto na concentração de 100 ppm foi misturado em água destilada e a outra parte em água de torneira, visando observar a reação do Hinokitiol com substâncias contidas na água de torneira, porque, caso houvesse reação, a ação fungicídica do produto seria anulada. Sendo assim, as repetições ficaram distribuídas do seguinte modo:

4 plantas	133 ppm	água destilada
4 plantas	100 ppm	água destilada
2 plantas	100 ppm	água de torneira
4 plantas	Testemunhas	agua de torneira

2.2.2 - Estacas

Foram usadas 360 estacas herbáceas de pimenta do reino com cinco nós. Estas estacas foram divididas em dois grupos: no Grupo I, após a retirada, as estacas foram mergulhadas nas soluções de Hinokitiol; no Grupo II, após a retirada, as estacas foram colocadas à sombra durante 6 horas e em seguida mergulhadas nas soluções do produto teste. O produto foi usado nas concentrações de 100ppm e 200ppm. Durante o tratamento, as estacas permaneceram imersas na solução por períodos de tempo pré-estabelecidos. Para cada tratamento foram usadas 60 estacas de cada grupo, sendo que o total, cada 10 estacas ficaram imersas nas soluções de Hinokitiol durante os tempos de 10min., 30 min., 120 min., 720 min., em seguida, foram plantadas no propagador e 14 dias após foram examinadas.

2.3 - ENSAIO EM VASOS

Neste ensaio o produto foi aplicado através de ampolas constituídas por pequenos pedaços de tubo capilar, afilados em uma das extremidades com o auxílio do bico de Bunsen. Na outra extremidade da ampola, ficou adaptado um tubo de plástico e borracha conjugados, onde foi adicionado o produto. Foram utilizadas concentrações de 100ppm, 133ppm e 100ppm. Na testemunha foi utilizado somente água. Nos tratamentos, os volumes de líquido usados no tubo de acordo com a concentração seguem-se:

100 ppm	10 cc de Hinokitiol	Testemunha 10 cc de água
133 ppm	10 cc de "	
200 ppm	4 cc de "	
1000 ppm	4 cc de "	

Uma semana após a aplicação de Hinokitiol, as plantas foram inoculadas com porções de cultura de *Fusarium solani* f. *piperi* com dez dias de idade. Para proceder a inoculação foram feitas incisiões na região herbácea dos ramos da planta, onde foram introduzidas porções de meio contendo estruturas do fungo.

2.4 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO DE CANTEIRO PARA PLANTIO DE MUDAS

Aplicou-se Hinokitiol à concentração de 1%, 0,1%, 0,2%, 0,02% ao solo de viveiros de mudas. O fungicida foi misturado no solo de viveiros, onde plantaram-se as mudas inoculou-se o fungo, trinta dias após o plantio.

2.5 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO NA COVA PARA O PLANTIO DE MUDAS

A aplicação de Hinokitiol à concentração de 1000ppm no solo da cova para o plantio de mudas, foi feito sob condições de campo, com terra naturalmente infectada. Plantaram-se 20 mudas em covas tratadas e 10 em covas não tratadas.

3 - RESULTADOS

3.1 - TESTE "IN VITRO"

As observações foram feitas até os 10 dias após o início do ensaio. Nas concentrações de 133ppm e 100ppm, o produto apresentou ação fungicida em relação ao patógeno. Na concentração de 66 ppm, o produto apresentou ação fungistática e na concentração de 50 ppm não teve nenhuma ação. A testemunha apresentou bom desenvolvimento (ver 5 - Quadro 1).

3.2 - DESINFECÇÃO DE MUDAS E ESTACAS

3.2.1 - Mudas

As mudas de cada tratamento ficaram imersas na solução de Hinokitiol, durante 12 horas e 72 horas respectivamente. As observações foram feitas durante trinta dias (ver 5 - Quadro 2).

3.2.2 - Estacas

Das concentrações, a mais eficiente foi 200ppm., quando as estacas ficaram à sombra durante 6 horas e em seguida tratadas (ver 5 - Quadro 3). Os resultados indicam que a substancia Hinokitiol parece possuir substancia hormonal que acelera a brotação das estacas, pois as que permaneceram só em água não brotaram durante os 15 dias em que durou o ensaio.

Baseado nestes resultados, foi feito um outro teste. Foram retiradas estacas de pimenta do reino de região da planta, distantes do solo 1,5 metros e 2,25 metros. As estacas foram deixadas à sombra por 6 horas e as concentrações usadas no teste foram de 100ppm e 200ppm. Após esse período, as estacas foram mergulhadas nos tempos de 2 horas, 6 horas e 24 horas e em seguida inoculadas. Depois de efetuadas as inoculações, as estacas foram plantadas no propagador e 60 dias depois foram feitas as leituras, constatando-se então que não houve eficiência do produto em relação a Fusarium solani f. piperi (ver 5 - Quadro 4). Foram utilizadas dez estacas por tratamento.

3.3 - ENSAIO EM VASOS

A avaliação foi feita em função do volume de solução absorvido pela planta e o tempo em que a planta permanece sem ser atacada pela enfermidade. Melhor concentração foi de 1000ppm. As testemunhas morreram 9 dias após a inoculação (ver 5 - Quadro 5).

3.4 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO DE CANTEIRO PARA PLANTIO DE MUDAS

Trinta dias após a inoculação do fungo, as plantas em solo com concentração de 0,1% e 0,2% estavam vivas. As plantas tra

tadas com o produto à concentração de 0,2% e a testemunha em que foi usado somente água, não sobreviveram. A solução de Hinokitiol a 1% foi fitotóxica para as plantas (ver 5 - Quadro 6).

3.5 - DESINFESTAÇÃO DO SOLO NA COVA PARA O PLANTIO DE MUDAS

Aos 200 dias após o plantio haviam morrido 8 mudas das 20 plantadas na cova com o produto e 7 nas covas sem o produto ou seja, 40% contra 70% das testemunhas (ver 5 - Quadro 7).

4 - DISCUSSÃO

O emprego de Hinokitiol parece ser mais eficaz no início do ataque da enfermidade. Portanto, terá mais eficiência em tratamentos preventivos (6.3). Durante o ensaio "in vitro", onde trataram-se colônias de Fusarium solani f. piperi desenvolvidas em agar de batatinha e dextrose nas concentrações de 133ppm e 100ppm, a substância atuou como fungicida. Na concentração de 50ppm, não foi eficaz. Para tratamento das estacas, a concentração mais eficiente foi 200ppm quando as estacas foram colocadas à sombra, antes do tratamento. Parece que esse modo de tratamento favorece a absorção da solução da substância teste. No tratamento de estacas a 1,5m e 2,5m o Hinokitiol não foi eficaz. No tratamento das mudas, a melhor concentração foi 100ppm, diluído em água de torneira. O tempo em que as mudas permaneceram imersas, parece não ter influência na eficiência do produto. No ensaio em vasos observou-se que, na concentração de 100ppm, o volume médio absorvido de Hinokitiol foi de 1,7ml e a duração média de vida das plantas de 77,4 dias, enquanto que nas plantas testemunhas a duração média das plantas foi de 9 dias. Nas demais concentrações, os resultados foram inferiores ao do tratamento 100ppm (ver 5 - Quadro 7). Quando o Hinokitiol foi adicionado ao solo de canteiros previamente infestado, com Fusarium solani f. piperi, o tratamento 0,1%, 7 dias após o plantio iniciou a emissão de raízes e 30 dias após a inoculação as plantas permaneceram vivas. Na concentração de 1%, a emissão de raízes só teve início 16 dias após o plantio e 30 dias após a inoculação, a maioria das plantas haviam morrido, evidenciando-se sua toxidez nessa concentração. As testemunhas só iniciaram a emissão, 11 dias após e nos 30 dias que sucederam a inoculação, todas haviam morrido.

No solo da cova o produto foi usado apenas na concentração de 1000ppm. Com este tratamento observou-se 20 dias após, que tanto as plantas tratadas como as plantas testemunhas, apresentaram desenvolvimento semelhante. Aos 100 dias após o plantio, as condições vegetativas das plantas testes eram melhores que as das plantas tratadas. Aos 200 dias, as plantas tratadas apresentaram boas condições vegetativas, evidenciadas pelo crescimento médio que foi de 51cm, enquanto que as testemunhas, embora apresentassem crescimento médio de 76cm, o índice de plantas mortas atingiu 70% das plantas tratadas. Das observações feitas durante o ensaio, notou-se que, o Hinokitiol parece ter efeito hormonal, favorecendo não só a emissão de raízes e brotação das estacas como influenciando no crescimento das plantas tratadas.

Das concentrações usadas do produto, neste ensaio, as que apresentaram maior eficácia foram: 100ppm para o teste "in vitro", 200ppm para desinfestação das estacas e mudas 1000ppm para tratamento do solo de vasos; 1000ppm para tratamento do solo de canteiros e 1000ppm para tratamento do solo da cova. A substância em estudo em concentração de 10000ppm foi fitotóxico para a pimenta do reino.

5 - ANEXOS

QUADRO 1

Data da Concentração	19 dia	29 dia	39 dia	59 dia	109 dia
133ppm	-	-	-	-	-
100ppm	-	-	-	-	-
66ppm	-	-	+	+	++
50ppm	+	++	++	+++	+++
Testemunha	+	++	+++	+++	++++

- ≡ Nulo

+ = Desenvolvimento reduzido

++ = Pouco desenvolvimento

+++ = Bom desenvolvimento

++++ = Desenvolvimento muito bom.

QUADRO 2

Condições das plantas no início do ensaio							30 dias após	
Nº de plantas	Peso das plantas	nº de folhas	Concen tração	Vei- culo	Tempo de imersão	Avalia ção	nº de folhã	
1	27,3	7	133 ppm	A.dest.	12hs	++	3	
2	47,4	12	133 ppm	"	12hs	++	10	
3	24,4	13	133 ppm	"	72"	+	5	
4	28,0	3	133 "	"	72"	+	3	
5	34,8	10	100 "	"	12"	+++	9	
6	24,6	7	100 "	"	12"	-	0	
7	37,7	26	100 "	"	72"	-	0	
8	23,7	6	100 "	"	72"	-	0	
9	22,3	7	100 "	A. torn.	12"	++	4	
10	28,0	3	100 "	"	72"	+	2	
11	23,7	6	0	"	12"	+++	6	
12	24,9	5	0	"	12"	+++	4	
13	19,7	3	0	"	72"	+++	3	
14	15,5	3	0	"	72"	+++	2	

+++ = Bom desenvolvimento
 ++ = Mal desenvolvimento
 + = Pêssimo desenvolvimento
 - = Morta

QUADRO 3

NÚMERO DE ESTACAS PEGAS							
Tempo de imersão (min.):	Grupo I			Grupo II			
	Concentração	100ppm	200ppm	Test.	100ppm	200ppm	Test.
10		0	0	0	0	0	0
30		0	0	0	0	0	0
60		1	2	0	1	5	0
120		4	7	0	0	7	0
360		1	3	0	3	4	0

QUADRO 4

NÚMERO DE ESTACAS PEGAS								
Altura das estacas	100 ppm				200 ppm			
	2 hs	6 hs	12 hs	24 hs	2 hs	6 hs	12 hs	24 hs
1,5 m	7	7	7	5	6	5	6	5
2,25 m	7	5	4	7	5	5	6	5

QUADRO 5

Nº de folhas	Concentração	Volume Absorvido p/planta	Duração das Plantas em dias
1	100 ppm	5	63
2	" "	6	10
3	" "	5	51
4	" "	5	69
5	" "	5	80
6	" "	2	10
7	133 ppm	5	10
8	" "	6	11
9	" "	5	10
10	" "	5	9
11	" "	5	10
12	" "	5	10
13	" "	3	10
14	" "	4	11
15	200 ppm	2	83
16	" "	2	51
17	" "	2	76
18	1000 ppm	1	76
19	" "	1	76
20	" "	1	70
21	" "	1	68
22	" "	2	80
23	" "	3	85
24	" "	3	87
25	0 Testemunha	5	9
26	"	6	9
27	"	5	9
28	"	4	9
29	"	3	9
30	"	5	9
31	"	5	9

QUADRO 6

Nº de planta	Concentração	Emissão de raízes (dias)	30 dias após Inoculação
1	10000 ppm	16	Viva
2	" "	14	"
3	" "	13	"
4	" "	17	Morta
5	" "	14	Viva
6	2000 ppm	7	Viva
7	" "	9	"
8	" "	9	"
9	" "	9	"
10	" "	9	"
11	1000 ppm	7	Viva
12	" "	7	"
13	" "	6	"
14	" "	8	"
15	" "	8	"
16	200 ppm	10	Morta
17	" "	10	"
18	" "	10	"
19	" "	10	"
20	" "	10	"
21	0%	13	Morta
22	"	10	"
23	"	14	"
24	"	10	"
25	"	10	"

QUADRO 7

Nº da planta	Al. da planta 20 dias após	Condição da planta 100 dias após o plantio	Condição da planta 200 dias após o Plantio	Al. da Plan ta 200 dias após (Cm)
1	36 cm	-	-	-
2	54 "	-	-	-
3	25 "	+	+++	56 cm
4	51 "	-	-	-
5	20 "	-	-	-
6	9 "	-	-	-
7	12 "	+	+++	102 cm
8	26 "	+	+++	114 "
9	39 "	+	+++	75 "
10	31 "	-	-	-
11	63 "	+	++	138 cm
12	38 "	+	+++	55 "
13	31 "	+	+++	67 "
14	48 "	+	+++	92 "
15	59 "	+	+++	132 "
16	27 "	+	+++	110 "
17	28 "	-	-	-
18	40 "	+	+++	94 "
19	44 "	+	+++	86 "
20	26 "	-	-	-
T E S T E M U N H A				
21	20 cm	+++	-	63 cm
22	45 "	+++	++	89 "
23	16 "	+++	+++	77 "
24	48 "	-	-	-
25	27 "	-	-	-
26	65 "	-	-	-
27	52 "	+++	-	-
28	45 "	+++	-	-
29		-	-	-
30	16 "	-	-	-

+++ : Viva

- : Morta

++ : Mã Conição

MABUCHI, N.; ALBUQUERQUE, F.C.de.;
DUARTE, M. de L.R. Efeito do
hinokitiol sobre fusarium solani
f. piperi agente da podridão das
raízes e secamento dos ramos da
pimenta do reino. (Piper nigrum
L.) Belém, IPEAN, 1973. 12p.
(Comunicado técnico, 41)

ABSTRACT: Five assays with the substance "Hinokitiol" (B-Tujaplicin) against Root Rot and Branch blight of black pepper caused by Fusarium solani f. piperi, were made. Those assays were "in vitro" test, disinfection of cuttings of soil in pots, seedbeds and pits for planting. On every assay Hinokitiol was eficiente for controlling the disease. The more eficiente concentrations were 200 ppm for cuttings treatment; 1000ppm for soil in pots treatment; 1000 ppm for soil in seedbeds treatment; and, 1000ppm at 10000ppm Hinokitiol was phytotoxic.

6 - FONTES CONSULTADAS

ALBUQUERQUE, F.C. de - Podridão das raízes e do pé da pimenta do
reino (piper nigrum L.) Belém, IPEAN, 1964. 22p. (Circular, 8)

ALBUQUERQUE, F.C. de - Podridão das raízes e do pé da pimenta do
reino. Belém, IAN, 1961. 45p. (Circular, 5)

HAYANA, S.; TANABE, T.; KANERI, Y. - Study on the effect of
hinokitiol on root rot of black paper plant. J. Agric. Sci.,
Tokyo, 15 (3):145-153. 1971.

REFERENCES on hinokitiol. Tokyo, Takasago Perfumery Co. s.d. 3p.