MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU

JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY

GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA
1990 -1995

00326

Belém, PA
1996

Geração de tecnologia
1996 LV-2005.00326
30936-1

ISSN 0101-2835

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU

JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY

GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA
1990-1995

Belém, PA
1996

EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:
EMBRAPA - CPATU
Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Telefones: (091) 226 - 6612, 226 - 6622
Telex: (91) 1210
Fax: (091) 226 - 9845
Caixa Postal, 48
66095 - 100 - Belém, PA

Tiragem: 200 exemplares

Unidade: AT-Sede
Valor aquisição:
Data aquisição:
N.º N. Fiscal/Fatura:
Fornecedor:
N.º OCS:
Origem: Doação
N.º Registro: 326/05

Comissão Editorial
Coordenação: Célio Francisco Marques de Melo
Dilson Augusto Capucho Frazão
Francisco José Câmara Figueirêdo

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos
Composição: Ana Mirtes Maciel Fouro
Paulo Sérgio Oliveira
Silvia Helena Carneiro Matos
Vitor Guilherme de Sousa
Capa: Euclides Pereira dos Santos Filho

EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). **Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvido do trópico úmido.** Belém: EMBRAPA - CPATU / JICA, 1996. p. 305 (EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85).

Convênio EMBRAPA - CPATU / JICA

1. Agroindústria - Tecnologia - Brasil - Amazônia.
I. Título. II. Série

CDD: 630.720811
© EMBRAPA - 1996

LEVANTAMENTO DE MICRORGANISMOS POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA *Fusarium solani* f.sp. *piperis*

Ruth Linda Benchimol Stein[1]
Fernando Carneiro de Albuquerque[1]
Elizabeth Ying Chu[1]
Zenzaburo Abe[2]
Yasuo Ueda[2]
Shingo Yoneyama[2]
Tadamitsu Endo[2]

Resumo: Microrganismos isolados de amostras de solo, coletados da rizosfera de pimenteiras sadias situadas, em áreas de foco de fusariose, foram selecionados em duas etapas. Na primeira etapa (1991/1993), a bactéria E-15 se destacou com ação fungistática e fungicida no meio de cultura, inibindo o crescimento micelial, a esporulação de *fusarium solani f. sp. piperis* em 78% e 66%, respectivamente, além de inibir a germinação de esporos. Na segunda (1994/1995), os microrganismos isolados INT-9, UND-12, MED-19 e ITO-5 foram selecionados "in vitro" para testes de antagonismo à *Fusarium solani f. sp. piperis* em casa-de-vegetação. Dos ramos sadios de pimenteira coletados na segunda etapa, foram obtidos 274 isolados de *F. solani*, os quais estão sendo avaliados quanto à sua patogenicidade. Os não-patogênicos ou pouco patogênicos serão utilizados em testes de proteção cruzada a *F. solani f. sp. piperis*. Nas mesmas amostras de solo, foram encontrados os gêneros de fungo micorrízico, *Acaulospora*, *Gigaspora* e *Glomus*, com população variando de cinco a 1.467 esporos/50g de solo, os quais estão sendo multiplicados em vasos de cultivo para testes de controle da fusariose. A determinação da ação dos fungos micorrízicos no controle biológico da fusariose está em andamento.

[1] Eng. Agr. M.Sc. EMBRAPA-CPATU. Caixa Postal 48, CEP 66.017-970. Belém, PA.
[2] Consultor da Japan International Cooperation Agency - JICA. Av. Nazaré 272, Sala 105. Ed. Clube de Engenharia, CEP 66.035-170. Belém, PA.

SURVEY OF MICROORGANISMS POTENTIALLY ACTIVE AGAINST *Fusarium solani f.sp. piperis*

Abstract: Microorganisms isolated from soil samples collected rhizosphere of healthy pepper plants situated in areas of fusariose foci were selected in two stages. During the first phase (1991/ 1993), the bacteria E-15 showed the greatest fungistatic and fungicidal action in culture media, inhibiting micellial growth, fusiariose sporulation in 78% and 66% respectively, besides inhibiting germination of spores. During the second stage (1994/ 1995), the isolated microorganisms INT-9, UND-12, MED-19, and ITO-5 were selected for testing their antagonism to fusariose in Green-house. From healthy branches of the pepper plants collected during the second stage, 274 isolated microorganisms of *F. solani* were obtained, and their pathogenicity is being evaluated. those found to be non- or little pathogenic will be utilized in crossed protection tests of *F. solani f.sp. piperis* Micorhizzic fungi of the *Acaulospora, Gigospora* and *Glamus* genus were found, with populations varying from 5 to 1,467 spores/ 50g of soil, which are being multiplied in pots for future furariose control tests. Testing is still underway to determine the action in the biological control of fusariose of micorhizic fungi.

Objetivo

O estudo sobre o controle biológico da fusariose da pimenta-do--reino tem como objetivo encontrar microrganismos que possam combater *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, em casa-de-vegetação e no campo, através de antibiose, competição, proteção cruzada e micorrizas vesicular-arbusculares.

Justificativa

A fusariose da pimenteira-do-reino é a doença mais prejudicial à cultura na região amazônica, tendo dizimado milhões de pimenteiras nos últimos 20 anos. As medidas de controle preconizadas são dispendiosas, além de apresentarem restrições que interferem no controle adequado da doença, sendo necessário o estudo de novos métodos de controle.

O levantamento de microrganismos com potencial para o controle biológico da fusariose é a etapa inicial para que um novo método de controle de doenças seja definido e introduzido no sistema de produção da pimenta-do-reino como um componente do controle integrado, contribuindo, dessa forma, para a racionalização dos custos com fungicidas.

Resultados parciais

Na primeira etapa do projeto, foram testados e selecionados *in vitro* 166 microrganismos isolados de amostras de solo da rizosfera de pimenteiras sadias, em plantios infestados pela fusariose, localizados em Tomé-Açu e Santa Isabel do Pará, em relação à sua capacidade de inibir o crescimento micelial, a esporulação e a germinação de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis*. Foram também testadas diferentes densidades de esporos no solo, capazes de causar infecção no hospedeiro, bem como a patogenicidade após inibição por antagonistas.

Experimento 1 - Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* por antogonistas

A inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, em meio de cultura, foi maior na presença do antagonista E-15, cujas substâncias antagônicas produzidas permaneceram ativas por quatorze dias e foram difundidas à uma distância de até 4 cm da colônia (Tabela 19).

TABELA 19 - Ação inibitória de substâncias antibióticas produzidas por antagonistas em meio de cultura, contra *Fusarium solani* f.sp. *piperis*.

Microrganismos antagônicos	Crescimento micelial (mm)/1							
	7 dias/2				14 dias/2			
	1cm	2cm	3cm	4cm/3	1cm	2cm	3cm	4cm/3
E - 15	-	-	-	-	-	-	-	-
E - 14	-	+	++	++	-	-	+	++
D - 13	+-	+	++	+++	-	-	-	+-
D - 10	+-	+	+	++	-	+-	+	++
C - 20	-	-+	++	+++	-	+-	++	+++
I - 7	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
S1-B6	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Testemunha	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

/1 Média de três repetições; /2 Período de incubação dos antagonistas; /3 Distância da colônia dos antagonistas;
- Sem crescimento; +- Crescimento < 0.5mm; + Crescimento > 0.5 e < 2mm;++ Crescimento > 2 e < 4mm; +++ Crescimento > 4mm.

Experimento 2 - Patogenicidade do micélio de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* após inibição *in vitro* por antagonistas

Alguns dos antagonistas testados apresentaram apenas ação fungistática em relação ao patógeno, paralisando o crescimento micelial enquanto ativos, mas sem matá-lo. Após retomar o crescimento na ausência dos antagonistas, *Fusarium solani* f.sp. *piperis* foi capaz de provocar infecção em estacas de pimenta-do-reino (Fig. 54).

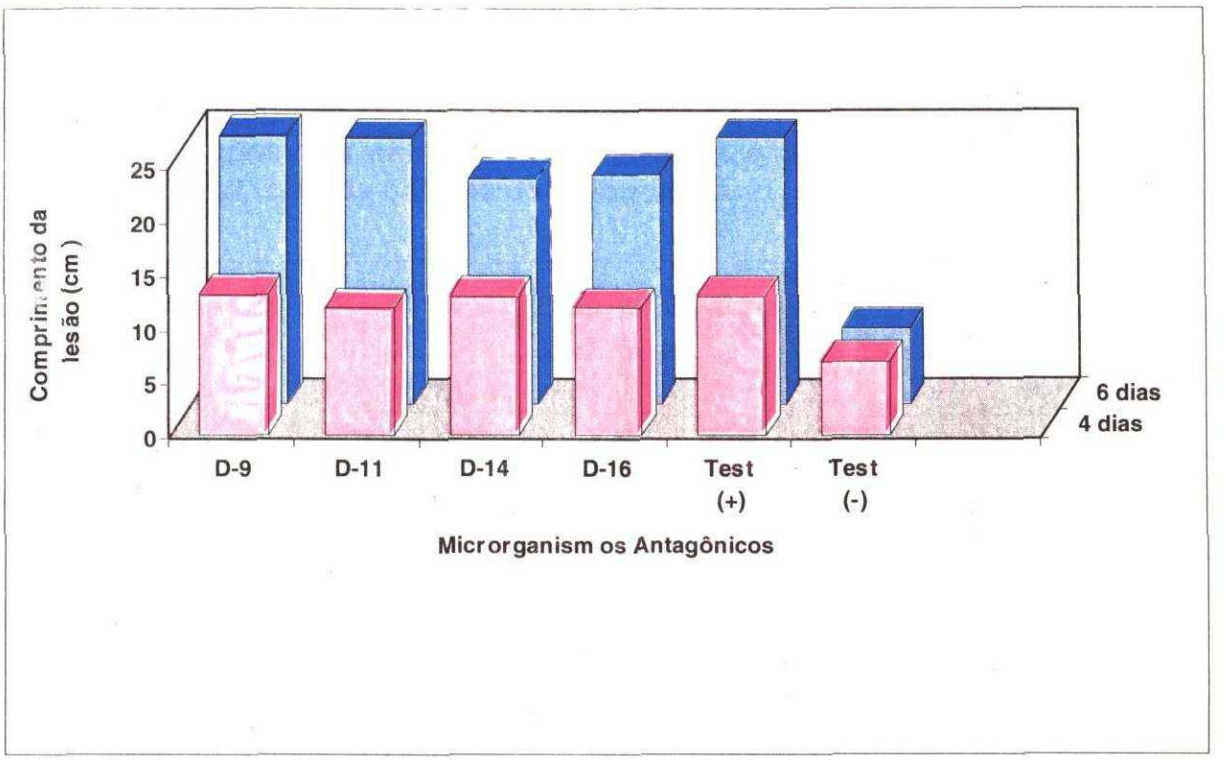

FIG. 54 - Patogenicidade do micélio de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* após inibição por microrganismos antagônicos.

Experimento 3 - Esporulação "*in vitro*" de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* na presença de antagonistas

Observou-se que os antagonistas E-15, E-14, I-7 e D-12 inibiram a esporulação do patógeno "*in vitro*" em 66%, 58%, 37% e 25%, respectivamente. Alguns microorganismos estimularam a produção de esporos, como pode ser observado na Fig. 55.

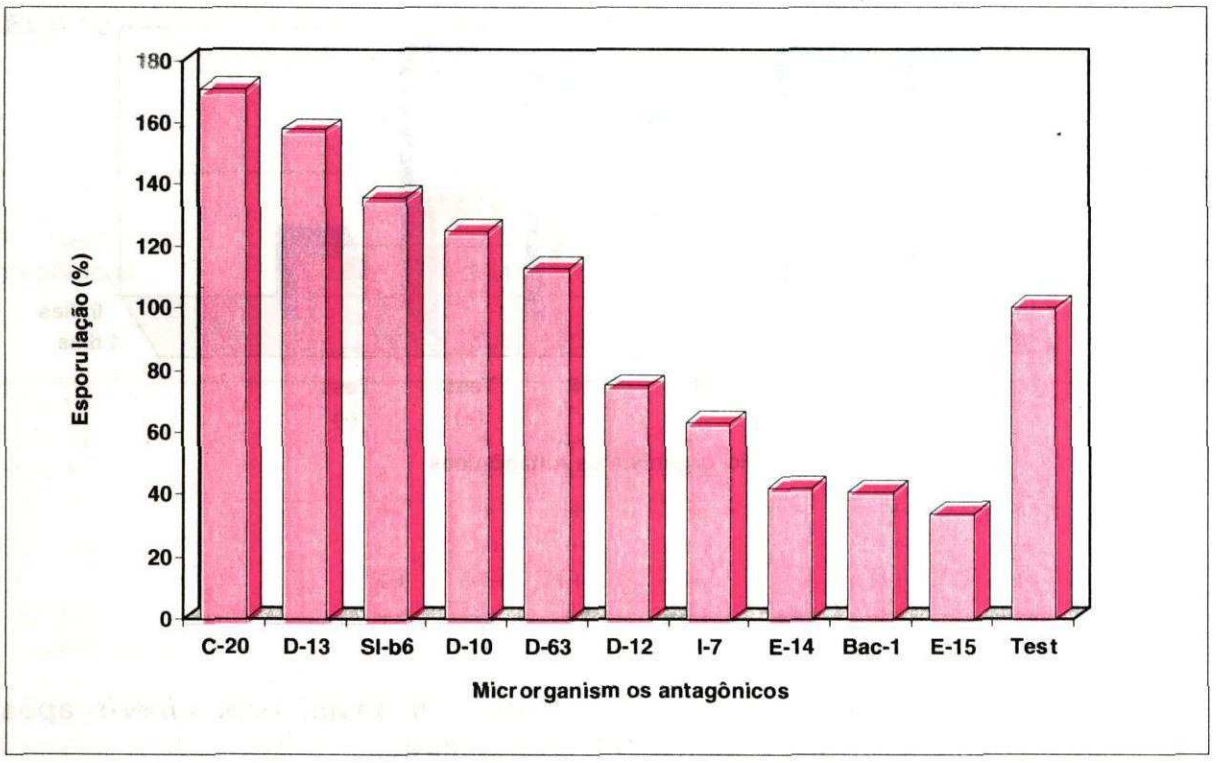

FIG. 55 - Esporulação "*In vitro*"de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* na presença de microrganismos antagônicos.

Experimento 4 - Inibição da germinação de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* por antagonistas

A germinação de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* foi inibida por substâncias antagônicas produzidas por E-15 e E-14 e difundidas em meio de cultura à distância de até 3 cm da colônia dos antagonistas (Tabela 20).

TABELA 20 - Inibição da germinação de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* por substâncias antagônicas difundidas em meio de cultura a diferentes distâncias da colônia do antagonista.

Microrganismos antagônicos	Zona de inibição (mm)[1]					
	7 dias			14 dias		
	1cm	2cm	3cm	1cm	2cm	3cm
E - 15	2,2	0	0	9,3a[2]	6,6	3,3
E - 14	2,1	0	0	5,8b	2,5	3,7
C - 20	1,4	0	0	0,9c	0,8	0,3
D - 10	1,9	0	0	0,9c	0,7	0,3
D - 13	2,2	0	0	0,8c	0,9	0,4
I - 7	0	0	0	0c	0	0
S1-B6	0	0	0	0c	0	0
Testemunha	0	0	0	0c	0	0

[1] Média de três repetições.
[2] Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan, a 1% de probabilidade.

Experimento 5 - Influência da concentração da suspensão de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* no aparecimento de sintomas de fusariose em "seedlings" de pimenta-do-reino

Observou-se que a ocorrência de fusariose em "seedlings" de pimenta-do-reino, com cinco meses de idade, inoculados com diferentes concentrações de suspensão de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, foi maior quando utilizou-se 5,4 x 10^5 esporos/ml (Fig. 56).

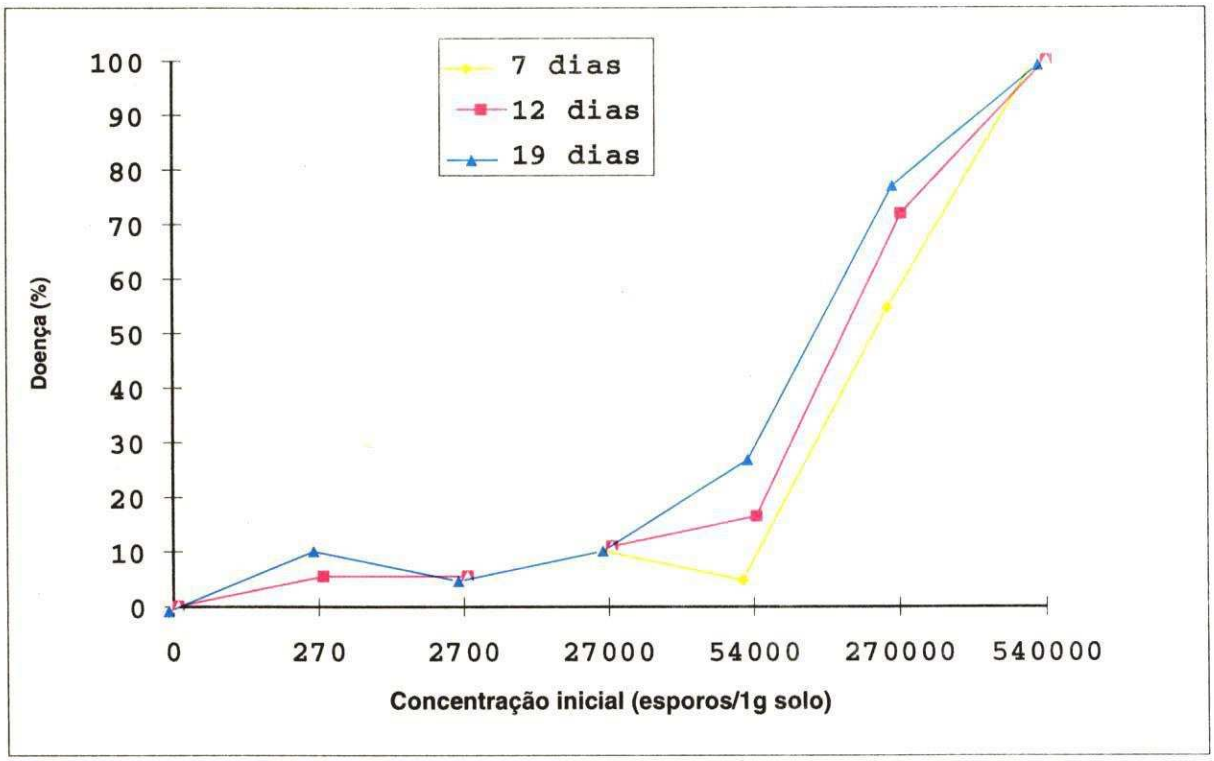

FIG. 56 - Ocorrência de doença em "seedlings" de pimenta-do-reino, provocada por diferentes concentrações de suspensão de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, em vasos inoculados artificialmente

Experimento 6 - Controle biológico da fusariose da pimenta-do-reino, através de microrganismos antagônicos

Na segunda etapa do projeto, novas amostras de solo foram coletadas da rizosfera de plantas sadias de pimenta-do-reino, situadas ao lado de plantas doentes ou mortas (Fig. 57), em áreas de foco de fusariose, com o objetivo de obter microrganismos antagônicos à *F. solani* f.sp. *piperis*, nos municípios de Tomé-Açu, Capitão Poço, Monte Alegre, Santarém e Paragominas (Tabela 21). Dessas amostras, foram isolados e testados 101 microrganismos, dos quais apenas quatro provocaram zonas de inibição "*in vitro*" a *F. solani* f.sp. *piperis* superiores a 9mm, critério determinado inicialmente para a seleção de antagonistas (Fig. 58). Os microrganismos selecionados serão testados em casa-de-vegetação, em "seedlings" e em estacas de pimenta-do-reino.

FIG. 57 - Planta sadia de pimenta-do-reino (direita) localizada em campo altamente infestado pela fusariose, selecionada para coleta de amostras da rizosfera para isolamento de antagonistas.

TABELA 21 - Origem das amostras de solo para isolamento e seleção de microrganismos com potencial antagônico a *Fusarium solani* f.sp. *piperis* (CPATU, 1994/1995).

Município	Código[1/]	Quantidade de microrganismos	Cultivar[2/]	Observações
Tomé-Açu	INT	11	Guajarina	Planta com 8 anos
	INT	11	Cingapura	Planta com 8 anos
Capitão Poço	ITO	19	Cingapura	Planta com 5 anos
	IAÇ	18	Iaçará	Planta com 5 anos
	NED	21	Cingapura	Planta com 5 anos
	ONO	20	Cingapura	
Santarém	IWA	32	Cingapura	Planta com 5 anos
	SOK	18	Cingapura	Planta com 5 anos
	QUI	18	Cingapura	Planta com 5 anos
Monte Alegre	KSH	29	Cingapura	Planta com 6 anos
	KTO	13	Cingapura	Planta com 5 anos
	OTS	12	Cingapura	Planta com 5 anos
Bragança (raiz)	SRG	19	Cingapura	Planta com 5 anos
Ipixuna	PRI	15	Cingapura	Planta com 5 anos
Paragominas	OKJ	13	Cingapura	Planta com 5 anos
	MIN	13	Cingapura	Planta com 5 anos
	ISH	12	Cingapura	Planta com 5 anos

[1/]Amostras de solo coletadas em três pontos diferentes da rizosfera de pimenteiras sadias, em áreas de foco de fusariose.
[2/]Cultivares de pimenta-do-reino.

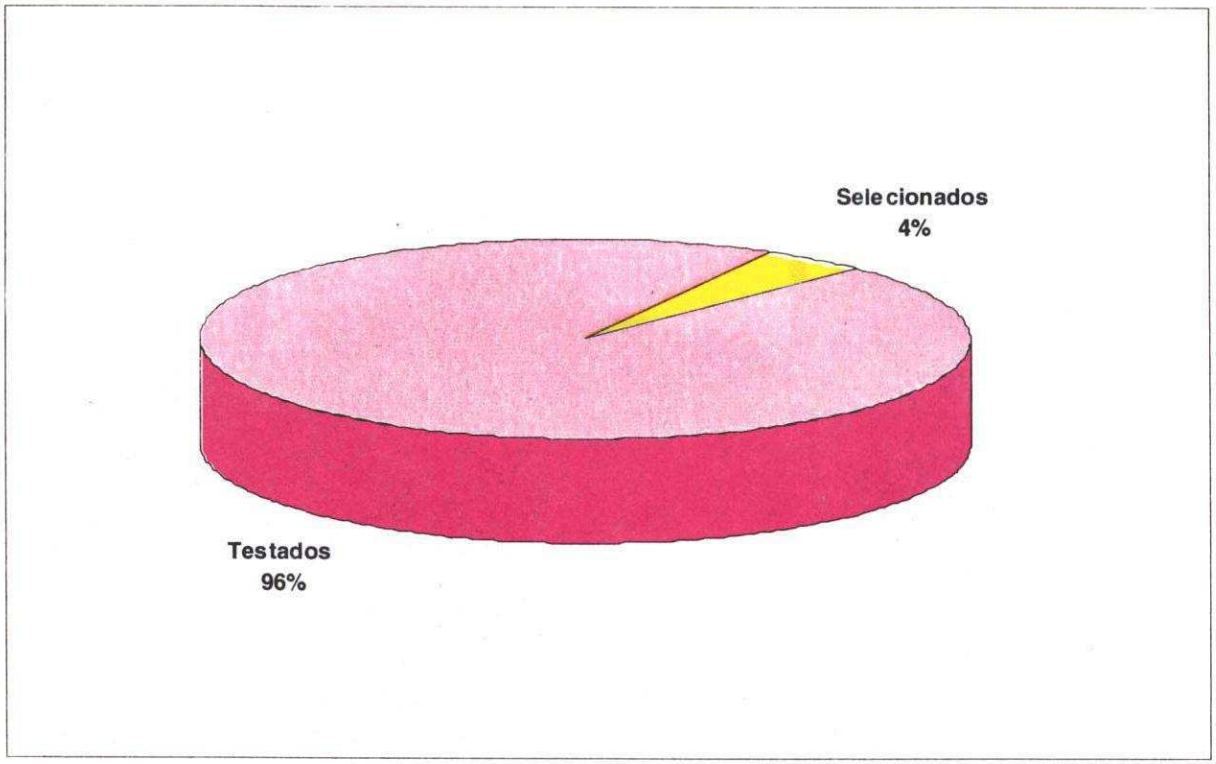

FIG. 58 - Percentual de microrganismos selecionados *in vitro* como possíveis agentes de controle de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, em relação ao percentual total de microrganismos testados.

Experimento 7 - Controle da fusariose da pimenta-do-reino através de proteção cruzada

Utilizando-se as plantas coletadas do isolamento de microrganismos antagônicos, principalmente dos ramos e das raízes, estão sendo obtidos isolamentos de *Fusarium* sp., os quais serão testados quanto à sua patogenicidade à pimenta-do-reino, com o objetivo de selecionar aqueles pouco patogênicos para serem utilizados como agentes de proteção cruzada à fusariose da pimenta-do-reino. De 19 amostras coletadas, em nove municípios do Estado do Pará, foram obtidos 274 isolados de *Fusarium* sp., os quais estão em fase de testes (Tabela 22).

TABELA 22 - Coleção de culturas de *Fusarium* obtidas de tecidos de ramos sadios de pimenta-do-reino.

Município	Local de Coleta	Data	Cultivar	Nº de Isolados de *Fusarium*
Tomé-Açu	CE/CPATU/INATAM	25/8/94	Guajarina	18
Capitão Poço	CE/CPATU	29/9/94	Iaçará-1	25
	Ito (produtor)	28/9/94	Cingapura	22
Castanhal	Kamata (produtor)	4/11/94	Cingapura	25
	Yamase (*)	4/11/95	Cingapura	13
	Yamase (*)	13/3/95	Cingapura	31
Belém	CE/EMBRAPA/CPATU	6/1/95	Guajarina	32
Monte Alegre	Kishi (produtor)	8/2/95	Cingapura	27
	Kato (*)	8/2/95	Cingapura	19
	Otsuki (*)	8/2/95	Cingapura	21
Santarém	Iwama (produtor)	10/2/95	Cingapura	19
	Soki (*)	10/2/95	Cingapura	6
	Quincó (*)	10/2/95	Cingapura	16
Capanema	Ishi (produtor)	10/4/95	Guajarina	5
	Mineshita (*)	10/4/95	Cingapura	26
Ipixuna	Okajima (produtor)	12/4/95	Cingapura	24
Paragominas	Mazin (produtor)	11/4/95	Cingapura	39
	Okajima (*)	11/4/95	Cingapura	39
	Sérgio (*)	11/4/95	Cingapura	36

*Em cada amostra foram utilizados 100 pedaços de tecidos sadios de pimenta-do-reino para o isolamento de *Fusarium* spp.

Experimento 8 - Controle biológico da fusariose da pimenta-do-reino através de micorrizas vesicular-arbusculares

Objetivando verificar a possibilidade de redução da incidência de fusariose em pimenteira-do-reino, através da inoculação com fungos micorrízicos, foi conduzido um experimento preliminar com plântulas de pimenteira-do-reino, variedade Guajarina, com 45 dias de idade, em casa-de-vegetação. Foram testadas as espécies de fungos micorrízicos *Gigaspora margarita* (Central), *Glomus mossae* (Idemitsu), *Scutelospora heterogama* e *Acaulospora* sp. A inoculação foi feita durante o transplantio das mudas de sementeira para copos de plástico descartáveis (400ml) contendo solo fumigado com brometo de metila, através da deposição de uma colher de sobremesa do solo-inóculo no fundo da cova, em contato direto com o sistema radicular das plântulas. Para a testemunha não-inoculada, foi colocada no fundo da cova a mesma quantidade de solo sem inóculo. Uma solução nutritiva completa foi adicionada quinzenalmente, na proporção de 10ml/copo (Tabela 23).

TABELA 23 - Solução nutritiva completa utilizada em plântulas de pimenteira-do-reino (CPATU 1994/1995).

Reagente	Quantidade
NaH_2PO_4 1 M	1 ml
KNO_3 1 M	1ml
$Ca(NO_3)_2$ 1 M	2 ml
K_2SO_4 0,5 M	2 ml
$(NH_4)_2SO_4$ 1 M	1,5 ml
$MgSO_4$ 0,5 M	2 ml
Solução de Fe-EDTA	1 ml
Solução A (para 1 litro de H_2O):	1 ml
H_3BO_3	0,4122 g
$MnCl_2.4H_2O$	1,98 g
$CuSO_4.5H_2O$	0,24968 g
MoO_3	0,0431 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0,28755 g

O volume final deve ser completado para 1.000 ml, com água destilada.

Três meses após a inoculação com os fungos micorrízicos foi realizada uma avaliação de altura e número de folhas emitidas pelas plântulas (Tabela 24). Em seguida, as plântulas foram transferidas para vasos de plástico com capacidade para 4kg de solo. O inóculo de *Fusarium solani* f.sp. *piperis*, previamente cultivado em mistura de solo + farelo de trigo, foi incorporado ao solo, na proporção de 0,25% (v/v), o qual foi posteriormente peneirado, para homogeneização. No fundo de cada vaso foi depositada a quantidade de 1.030g do solo inoculado com o patógeno. No ato do transplantio foi feita uma reinoculação com os fungos micorrízicos em metade das plantas, inclusive no controle não-inoculado com o patógeno (*Gigaspora margarita*), através da deposição do inóculo entre o sistema radicular da planta e o solo inoculado com *F. solani* f.sp. *piperis*. Para completar o volume dos vasos foi utilizado solo fumigado, isento de fungos micorrízicos e do patógeno.

TABELA 24 - Altura e número de folhas emitidas por plântulas de pimenteira-do-reino, variedade Guajarina, três meses após a inoculação com diferentes espécies de fungos micorrízicos.

Tratamento	Altura (cm)*	Número de folhas*
Acaulospora sp.	10,94	6,5
Scutellospora heterogama	14,21	7,1
Gigaspora (Central)	11,94	6,5
Glomus (Idemitsu)	8,69	5,1
Testemunha (não-inoculada)	4,77	3,4

*Média de dez plântulas.

Novas sementes de pimenta-do-reino foram postas para germinar em areia lavada e autoclavada, de onde foram transferidas, em estádio cotiledonal, para copos de plástico (500ml) contendo solo fumigado. Os tratamentos incluíram inoculação com cinco diferentes espécies de fungos micorrízicos: *Acaulospora* sp., *Scutellospora heterogama*, *Entraphospora colombiana*, *Gigaspora margarita* (Idemitsu), *Glomus mossae* (Idemitsu) e testemunha não-inoculada. A metodologia experimental é a mesma do experimento anterior.

Simultaneamente, estão sendo feitas coletas de solo da rizosfera de pimenteiras adultas sadias, variedade Cingapura, sobreviventes de plantios em áreas atacadas pela fusariose nos municípios de Monte Alegre, Santarém, Capanema, Ipixuna e Paragominas, Estado do Pará, em busca de novas espécies nativas de fungos micorrízicos para serem testadas no controle biológico da fusariose. As amostras de solo coletadas foram conservadas em caixas de isopor com gelo, até o processamento no Laboratório do Solo, no CPATU. As amostras homogeneizadas foram divididas em três partes: 50g para extração de esporos; 50g para multiplicação dos fungos micorrízicos em vasos de cultivo e 500g para análise de solo no Laboratório de Solos. Após a extração, o número de esporos foi contado com o auxílio de lupa estereoscópica (Tabela 25). Os vasos de cultivo serão avaliados após três meses, através do isolamento e identificação das espécies. Novos vasos de cultivo serão feitos com as espécies separadas, para serem usados como fonte de inóculo em estudos sobre o controle biológico da fusariose da pimenteira-do-reino.

TABELA 25 - Quantidade de fungos micorrízicos encontrada em amostras de solo coletadas em diferentes municípios do Estado do Pará.

Município	Código	Número de esporos por 50g de solo	Gênero
Monte Alegre	001	17	*Acaulospora; Gigaspora*
	002	05	*Acaulospora*
	003	15	*Acaulospora; Glomus*
Santarém	004	81	*Acaulospora; Glomus*
	005	10	*Acaulospora; Glomus*
	006	76	*Acaulospora; Glomus*
	007	63	*Acaulospora; Glomus*
Capanema	008	35	*Acaulospora; Glomus*
	009	08	*Acaulospora*
Paragominas	010	1.467	*Acaulospora; Glomus*
	011	17	*Acaulospora; Glomus*
	012	22	*Acaulospora; Glomus*
Ipixuna	013	369	*Acaulospora; Gigaspora; Glomus*

Conclusões preliminares

A bactéria E-15 apresentou ação fungistática e fungicida contra *Fusarium solani* f. sp. *piperis* em meio de cultura.

Os antagonistas isolados E-15, E-14, 1-7 e D-12 inibiram a esporulação de *Fusarium solani* f .sp. *piperis* "in vitro".

A germinação de esporos de *Fusarium solani* f.sp. *piperis* foi inibida por substâncias antagônicas produzidas por E-15 e E-14 em meio de cultura.

A concentração de 5,5 X 10^5 esporos/ml de suspensão de esporos de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* causou a maior ocorrência de fusariose em "seedings" de pimenteira-do-reino com cinco meses de idade.

Dos microrganismos isolados das amostras de solo coletadas, em cinco municípios do Estado do Pará, apenas 4% apresentou ação antagônica sobre *F. solani* f.sp. *piperis* "in vitro".

De 19 amostras de ramos sadios de pimenteiras, coletadas em nove municípios do Estado do Pará, foram obtidos 274 isolados de *Fusarium solani* para testes de proteção cruzada contra *F. solani f. sp. piperis.*

Das amostras de solo coletadas, em cinco municípios do Estado do Pará, foram encontrados três gêneros de fungo micorrízico, com a população variando de 5 a 1.467 esporos/50g de solo.

Difusão de tecnologia

- Apresentação dos resultados obtidos, através de palestras, durante a visita da Missão Japonesa de Avaliação do Convênio CPATU/JICA, em outubro de 1992 e dezembro de 1993.

- Divulgação de resultados experimentais durante a visita do Dr. Matsuda, Chefe do Projeto Pimenta na República Dominicana, e uma equipe de quatro pesquisadores, em 1992.

- Divulgação de resultados experimentais durante a visita do Dr. Tsão, da Universidade de California, especialista em Phytophthora, em 1991; e para dois técnicos da República Dominicana, durante aula sobre doenças de cultura da pimenta-do-reino, como parte de treinamento oferecido pelo CPATU.

- Apresentação de dois trabalhos científicos - "Levantamento de microrganismos para o controle biológico da fusariose" e "Ecologia de *F. solani* f. sp. *piperis*" - em reunião técnica na Universidade Kinki, em Nara, Japão, em abril de 1993.

- Apresentação de trabalho científico, na forma de Poster, sobre o levantamento de microrganismos potencialmente ativos contra *F. solani* f. sp. piperis, durante o Congresso Brasileiro de Fitopatologia, em Aracaju, SE, em agosto de 1993.