

76

AVALIAÇÃO E DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE PLÂNTULA DE LINHAGENS DE PIMENTA-DO-REINO ORIGINADAS POR IRRADIAÇÃO DE RAIOS-GAMA PARA TOLERÂNCIA A FUSARIOSE

Oriel Filgueira de Lemos¹, Akihiko Ando², Marli Costa Poltronieri³, Maria de Lourdes Reis Duarte³ e Augusto Tulmann Neto⁴

¹Eng^o Agr^o, Doutorando ESALQ/USP, Bolsista do CNPq, CEP 13400-970, Piracicaba- SP, e-mail: oflemos@cena.usp.br

²Eng^o Agr^o, Prof. Doutor, ESALQ/USP, CEP 13400-970, Piracicaba- SP.

³Eng^a Agr^a, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66.095-100, Belém-PA

⁴Eng^o Agr^o, Prof. Doutor, CENA/USP, CEP 13400-970, Piracicaba- SP.

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores mundiais de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), cuja maior produção atingiu cerca de 50.000 t em 1991 e menor em 1996 com 13.000 t. Dentre os estados brasileiros, o Pará contribui com 90% da produção, onde a cultura é significativamente importante por ser um produto de exportação.

Um dos grandes entraves para seu cultivo, além da grande oscilação do preço no mercado internacional, é a doença fusariose, causada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, pois influencia na longevidade das plantas, reduz o ciclo produtivo e afeta diretamente a produção. Uma vez ocorrida a doença, uma área de cultivo com 20 ha (30.000 plantas) pode ser dizimada em dois anos. Dentro da espécie, até então, nenhuma cultivar apresentou resistência e o melhoramento convencional por si só, também não tem apresentado êxito.

Para obter resistência e/ou tolerância à fusariose, um trabalho teve início em 1978 através da irradiação de estacas da cultivar Cingapura com raios-gama da fonte de ⁶⁰Co. Através de inoculação artificial e de plantio em área de ocorrência natural severa da doença, três clones foram selecionados, que após cinco gerações em áreas de produtores selecionaram-se quinze linhagens, as quais têm apresentado tolerância à doença.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as linhagens mutantes em área de produtores quanto à tolerância à fusariose e estabelecer condições adequadas de cultivo *in vitro* para desenvolvimento de plântulas das linhagens, visando a micropropagação e contínua avaliação quanto à tolerância à doença.

O experimento para avaliação de incidência da doença fusariose e sobrevivência foi instalado em área de produtor com ocorrência da doença, no município de Tomé-Açu, Estado do Pará, constituído de 15 linhagens de plantas vM5 e uma linhagem selecionada das estacas não irradiadas, em delineamento inteiramente casualizado, com 1 a 7 repetições e com número de plantas variando de 8 a 56 plantas por linhagem, sendo cada repetição constituída de 8 plantas. A avaliação foi feita quanto às plantas sobreviventes e mortas pela ocorrência da doença.

A partir da coleta dos frutos de nove linhagens, sementes foram obtidas, esterilizadas e inoculadas em meio básico de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com adição ou não de carvão ativado a 0,2% (p/v) juntamente ou não com NaH₂PO₄ a 0,17g.L⁻¹. O experimento foi instalado inteiramente ao acaso num fatorial de 2X2 (carvão ativado 0,0% ou 0,2% e NaH₂PO₄ a 0,0 ou 0,17g.L⁻¹), sendo cada linhagem uma repetição (9

repetições).

Pelas avaliações realizadas quanto à incidência da doença e sobrevivência, observou-se que algumas linhagens (C25, C132, C170 e C45), constituída de três ou mais repetições, destacaram-se por apresentar menores índices de morte pela incidência da doença fusariose, porém outros fatores como sêca, excesso de água no solo e outros, afetaram mais a sobrevivência das linhagens originadas das estacas irradiadas do que daquelas não irradiadas (Tabela 1). Ressalte-se que a morte por incidência da fusariose foi menor, com exceção da linhagem N121, nas linhagens originadas de estacas irradiadas do que na linhagem originada de estacas não irradiadas, mas os testes de heterogeneidade não apresentaram diferença significativa entre as mesmas..

Tabela 1. Incidência da doença fusariose e sobrevivência de plantas vM5 selecionadas a partir de estacas irradiadas com raios-gama da fonte de ^{60}Co .

Linhagem	Total de plantas	Repetição	Plantas sobreviventes		Plantas mortas pela fusariose	
			1999	2000	1999	2000
C25	22	3	7 (31,8)*	7(31,8)*	1 (6,7)**	1 (6,7)**
C26	40	5	18 (45,0)	12(30,0)	2 (9,1)	8 (28,6)
C45	24	3	7 (29,2)	6(25,0)	1 (5,9)	2 (11,1)
C70	56	7	29 (51,8)	19 (33,9)	0 (0,0)	9 (24,3)
C123	40	5	19 (47,5)	15 (37,5)	1 (4,8)	4 (16,0)
C132	24	3	9 (37,5)	8 (33,3)	0 (0,0)	0 (0,0)
C137	24	3	13 (54,2)	10 (41,7)	1 (9,1)	3 (21,4)
C163	56	7	23 (41,1)	12 (21,4)	3 (9,1)	11 (25,0)
C166	56	7	19 (33,9)	11 (19,6)	4 (10,8)	11 (24,4)
C170	48	6	18 (37,5)	15 (31,3)	0 (0,0)	3 (9,1)
N27	8	1	4 (50,0)	4 (50,0)	1 (25,0)	1 (25,0)
N108	16	2	7 (43,8)	5 (31,3)	1 (11,1)	3 (27,3)
N121	8	1	5 (62,5)	3 (37,5)	0 (0,0)	2 (66,7)
N135	8	1	4 (50,0)	3 (37,5)	0 (0,0)	1 (25,0)
N148	8	1	3 (37,5)	3 (37,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
	438		185 (42,2)	133 (30,4)	15 (5,9)	59 (19,3)
CT	24	3	13 (54,2)	5 (20,8)	2 (18,2)	9 (47,4)

Obs: C – Linhagens selecionadas originárias do viveiro da CAMTA

N - Linhagens selecionadas originárias do viveiro da Fazenda Nakanishi

CT – Linhagens selecionadas de estacas não irradiadas

* - Percentagem (%) de sobrevivência

** - Percentagem (%) de fusariose de todas as plantas mortas

No experimento para desenvolvimento de plântulas, segundo a análise estatística realizada (Tabela 2), o meio básico de cultura MS com adição de $0,17 \text{ g.L}^{-1}$ de NaH_2PO_4 contribuiu altamente significativo para a germinação das sementes. De todas as plântulas formadas 70,58% das plântulas desenvolveram-se em meio de cultura que continha NaH_2PO_4 com e sem carvão ativado. Ademais, a linhagem mutante que mais desenvolveu plântula foi a C45 (17,65%) e as de menores performances foram as N135 e a cultivar Cingapura (4,90%). Isto evidencia que a radiação-gama não prejudica o desenvolvimento

do embrião e conversão em plântula (Figura 1).

Tabela 2. Análise da variância do delineamento em fatorial 2X2 quanto ao efeito do meio de cultura básico MS com ou sem adição de carvão ativado a 0,2% juntamente com ou sem 0,17g.L⁻¹ de NaH₂PO₄ no desenvolvimento de plântula *in vitro*.

Fonte de variação	G. L.	Q. M.	F
Carvão ativado (C. A.)	1	5,444	2,45ns
NaH ₂ PO ₄	1	49,000	22,05**
C. A.X NaH ₂ PO ₄	1	5,444	2,45ns
Tratamento	3	19,963	-
Resíduo	32	2,222	

Tabela 3 Percentagem de plântulas desenvolvidas *in vitro* de diferentes linhagens de pimenta-do-reino selecionadas de estacas irradiadas com raios-gama e não irradiadas em meio de cultura básico MS com ou sem adição de carvão ativado a 0,2% juntamente com ou sem 0,17g.L⁻¹ de NaH₂PO₄.

Linhagem	NaH ₂ PO ₄ 0,17 g.L ⁻¹ (%) ¹		Sem NaH ₂ PO ₄ (%) ¹		Total (%) ²
	C/ C.A.(0,2%)	S/ C.A.	C/ C.A.(0,2%)	S/ C. A.	
C-137	25,0	41,66	16,67	16,67	11,76
C-166	25,0	41,67	25,00	8,33	11,76
C-132	41,67	50,00	8,33	0,00	11,76
N-27	38,46	30,77	23,08	7,69	12,75
N-121	40,00	26,67	26,67	6,66	14,71
C-70	40,00	20,00	40,00	0,00	9,81
CING.	80,00	20,00	0,00	0,00	4,90
C-45	22,22	33,33	27,78	16,67	17,65
N-135	40,00	60,00	0,00	0,00	4,90
Total (%) ²	35,29	35,29	21,57	7,85	100,00

¹Percentagem relativa de plântula formada, considerando o total de cada linhagem igual a 100%; ²Percentagem total relativa de plântula formada por meio de cultura utilizado em relação ao total geral de plântula formada (100%).

Pelas observações realizadas e comportamento do material no campo originário de estacas irradiadas com raios-gama, a seleção contínua permite uma maior tolerância das plantas de pimenta-do-reino ao fungo *Fusarium solani f. sp. piperis*, conseqüentemente aumento no ciclo produtivo, tornando-se uma alternativa para ser adotada dentro de um programa de melhoramento genético da cultura, considerando que o material disponível não apresenta fonte de resistência à doença.

Outrossim, para o desenvolvimento de plântula *in vitro* recomenda-se a adição de NaH₂PO₄ no meio básico de cultura MS para maior eficiência do processo.

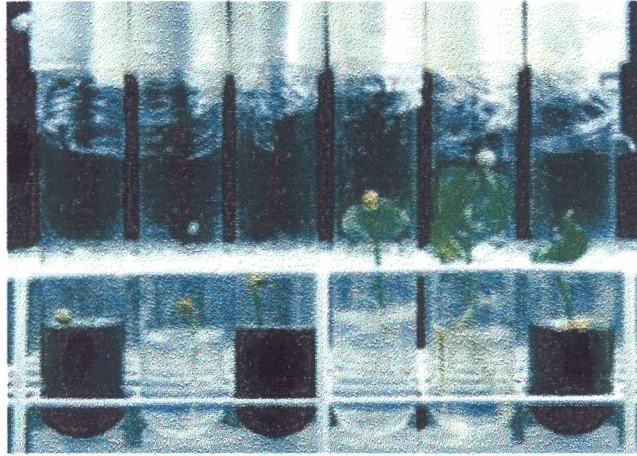


Figura 1. Diferentes estádios de desenvolvimento de plântula *in vitro* de pimenta-do-reino em meio básico de cultura MS com adição ou não de carvão ativado e NaH_2PO_4 .

