

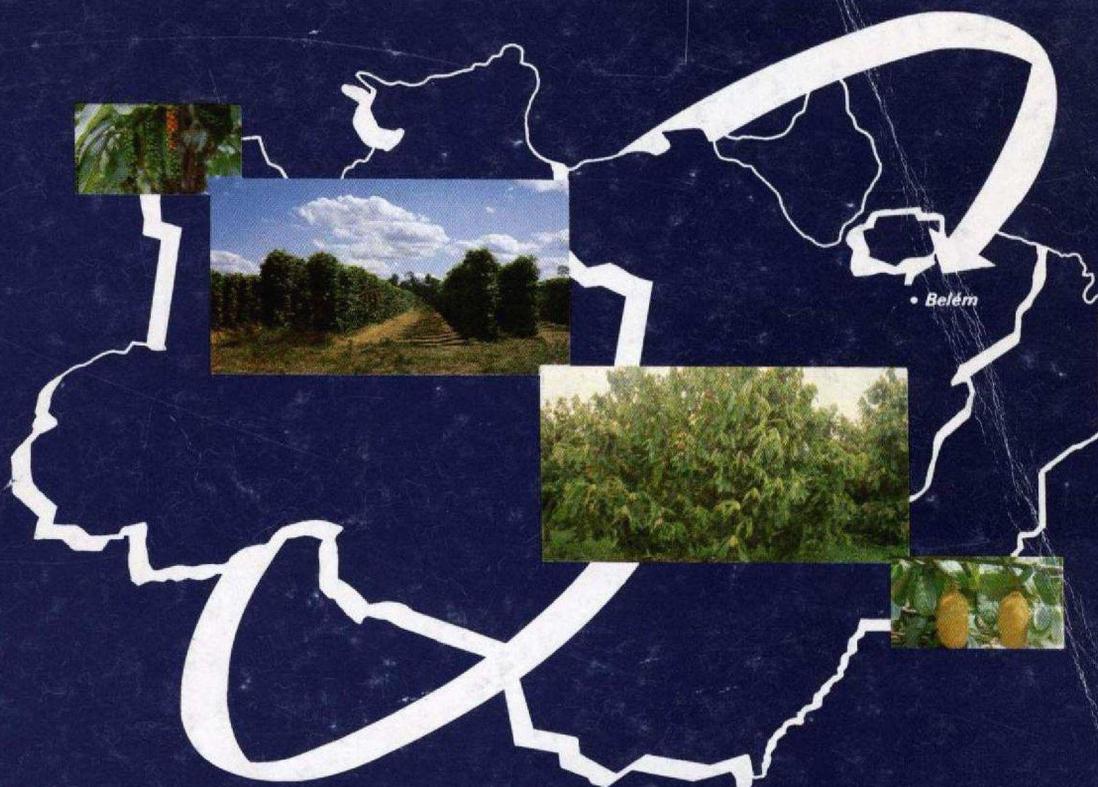
ISSN 0101-2835

*Seminário Internacional Sobre
Pimenta-do-reino e Cupuaçu*

*International Seminar on
Black Pepper and Cupuaçu*

*Seminario Internacional Sobre
Pimienta y Cupuaçu*

17 a 19 de dezembro de 1996



ANAIS

PROCEEDINGS

ANALES

Embrapa

Amazônia Oriental

JICA

**Belém - Pará - Brasil
1997**

Anais...
1997

PC-2005.00226



AI-SEDE-28762-2

ISSN 0101-2835

**Seminário Internacional Sobre
Pimenta-do-reino e Cupuaçu**

**International Seminar on
Black Pepper and Cupuaçu**

**Seminario Internacional
Sobre Pimienta y Cupuaçu**

Belém, 17 a 19 de dezembro de 1996
Belém, December 17 through 19, 1996
Belém, 17 a 19 de diciembre de 1996

ANAIS

PROCEEDINGS

ANALES

Embrapa

Amazônia Oriental

JICA

**Belém - Pará - Brasil
1997**

Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

*Embrapa Amazônia Oriental
Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Telefones: (091) 246-6653, 246-6333
Telex: (91) 1210
Fax: (091) 226-9845
Caixa Postal, 48
66095-100 - Belém, Pará*

Tiragem: 300 exemplares

| | |
|-----------------------|---------|
| Unidade: | Ar-Sede |
| Valor aquisição: | |
| Data aquisição: | |
| N.º H. Fiscalizatura: | |
| Fornecedor: | |
| N.º CCC: | |
| Origem: | Jodca |
| N.º Registro: | 226/05 |

Comissão de Organização e Editoração

*Dilson Augusto Capucho Frazão - Coordenador
Emmanuel de Souza Cruz
José Furlan Júnior*

Expediente

*Coordenação Editorial: Dilson Augusto Capucho Frazão
Normalização: Célia Maria Lopes Pereira
Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos
Composição: Daniel Luiz Leal Mangas
Décio Mangueira da Silva
Emmanoel Ubiratan de Lima
Euclides Pereira dos Santos Filho
Paulo Sérgio Oliveira*

Nota: Os trabalhos publicados nestes anais não foram revisados pelo Comitê de Publicações da Embrapa Amazônia Oriental como normalmente se procede para as publicações regulares. Assim sendo, todos os conceitos e opiniões emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1., 1996, Belém, PA. Anais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/JICA, 1997. 440p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 89).

1. Pimenta-do-reino - Congresso. 2. Cupuaçu - Congresso. I. Embrapa. Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental (Belém, PA). II. Título. III. Série.

CDD: 633.840601

©Embrapa - 1997

OBTENÇÃO DE MUTANTES RESISTENTES À FUSARIOSE (*Fusarium solani* f.sp. *piperis*) EM PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.) ATRAVÉS DE IRRADIAÇÃO GAMA

Akihiko Ando¹, Fernando Carneiro de Albuquerque², Marl Costa Poltronieri³ e Augusto Tulmann Neto³

RESUMO: Este trabalho foi iniciado em 1977, a fim de obter mutantes resistentes à fusariose (podridão das raízes e do pé em pimenta-do-reino por meio de irradiação gama). As estacas da cultivar Singapura, 428 no total, foram irradiadas no CENA/USP, com as doses de 2,0 e 2,5 kR de raios-gama e transplantadas no Campo Experimental do INATAM/JICA, Tomé-Açu, Pará. Após a primeira poda das plantas V₁, obtiveram-se 500 mudas V₂ que foram inoculadas no INATAM com o patógeno por meios artificial e natural. A partir de três plantas V₂, sobreviventes após seleções com o patógeno, multiplicaram-se as mudas V₃, instalando-se em seguida, no INATAM, em 1985, o ensaio preliminar de caracterização dos mutantes. As plantas V₃, selecionadas, foram multiplicadas e o novo plantel V₄ foi instalado, em 1988, nos viveiros da CAMTA e da Fazenda Nakanishi, em Tomé-Açu. As mudas V₅ provenientes das plantas V₄, selecionadas pela ausência de sintomas da doença, vigor de crescimento e produtividade de sementes, foram plantadas, em 1993, em campo de produção de pimenta-do-reino de dois produtores rurais em Tomé-Açu. Em 1996, três plantas V₅ foram selecionadas a fim de multiplicação de mudas, e de instalação de ensaio comparativo de produção de sementes em vários locais da região produtora de pimenta-do-reino em Tomé-Açu.

OBTENTION OF BLACK PEPPER (*Piper nigrum* L.) MUTANTS RESISTANT TO ROOT ROT AND STEM BLIGHT THROUGH GAMMA RADIATION

ABSTRACT: The present study was initiated in 1977 in order to get mutants resistant to *Fusarium disease*, caused by *F. solani* f.sp. *piperi* in blackpepper through gamma-irradiation. Cuttings of the cultivar Singapore, 428 in total, were irradiated with doses of 2.0 and 2.5 kR of gamma-rays at CENA/USP, and transplanted in the experimental field of INATAM/JICA, in Tomé-Açu, Pará. After the first cutting-back V₁, 500 V₂ young plants were obtained by cutting and submitted to artificial and natural inoculations with the pathogen. After inoculations, three plants survived and the V₃ plants were multiplied from them. The first preliminary test of characterization was started in the experimental field of INATAM in 1985. The V₄ plants were multiplied from the selected V₃ plants and transplanted to the experimental fields of CAMTA and Fazenda Nakanishi in 1988 for better evaluation of the characteristics: absence of the disease symptom, growth vigor and seed productivity. The V₅ plants, originated from the selected V₄ plants, were planted in the fields of blackpepper production of two local farms in 1993. In 1996, three V₅ plants were selected in order to multiply by cutting and to set comparative test of seed production in various sites of the region of Tomé-Açu.

¹ Prof. Dr. do Deptº de Genética - ESALQ/USP, Caixa Postal 9, CEP 13400-970, Piracicaba, SP e Pesquisador do CENA/USP, Seção de Radiogenética, Caixa Postal 96, CEP 13400-970, Piracicaba, SP.

² Eng.- Agr. M.Sc., Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal, 48, CEP 66017-970, Belém, PA.

³ Prof. Dr. da Seção de Radiogenética do CENA/USP, CEP 13400-970, Piracicaba, SP.

INTRODUÇÃO

A pimenta-do-reino é provavelmente originária do sudoeste da Índia. Há descrição sobre comércio desta cultura no século IV A.C. Atualmente, a pimenta-do-reino é produzida principalmente em países do sudoeste asiático, tais como: Indonésia e Sarawak, além da Índia e Brasil.

No Brasil, a cultura da pimenta-do-reino foi introduzida no Estado da Bahia no século XVIII, e posteriormente nos Estados da Paraíba, Maranhão e Pará, porém a produção desta cultura era insignificante nestas regiões (Albuquerque & Condurú, 1971).

Em 1933, algumas estacas de pimenta-do-reino, cultivar Cingapura, foram introduzidas no município de Tomé-Açu, PA, para produção comercial. Devido ao alto lucro, principalmente no período pós-guerra mundial, das décadas de 40 e 50, a cultura foi rapidamente difundida nessa região através de propagação vegetativa, constituindo-se atualmente uma das culturas mais importantes do ponto de vista sócio-econômico da região amazônica, sendo o Estado do Pará o maior produtor, com uma produção de 34.000 toneladas de sementes, 82% da produção total do Brasil (Anuário... 1994).

*Entretanto, por volta de 1960, observou-se o primeiro sintoma da doença "podridão-das raízes e do pé" nesta cultura, causada pelo fungo *Fusarium solani* f.sp. *piperis*. Esta doença propagou-se rapidamente na região, destruindo, em curto tempo, grande área cultivada com pimenta-do-reino.*

Devido a dificuldades encontradas na introdução do germoplasma de pimenta-do-reino do seu centro de origem, ou devido à ausência de variabilidade genética no pimental formado pelo estaqueamento sucessivo a partir de algumas estacas inicialmente introduzidas da cultivar Cingapura, foi planejado um trabalho sobre indução artificial de mutantes resistentes à fusariose através de irradiação gama. O trabalho foi iniciado em 1977, em colaboração com o Instituto Experimental Agrícola Tropical da Amazônia - INATAM/Japan International Cooperation Agency - JICA, em Tomé-Açu, o Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU, da Embrapa, em Belém, e a Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e o Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA, ambos da Universidade de São Paulo, em Piracicaba. O trabalho contou, posteriormente, com a colaboração da Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açu - CAMTA, em Tomé-Açu.

MATERIAL E MÉTODOS

Em 1977, foi realizado um experimento preliminar para determinação de doses de raios-gama a serem aplicadas. As estacas da cultivar Cingapura, no total de 304, com 2-3 gemas axilares, foram irradiadas com 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 e 7.0 kR de raios-gama da fonte de ^{60}Co do CENA e levadas para o INATAM logo após a irradiação.

Todas as estacas V_1 (estacas irradiadas) foram plantadas separadamente, seis dias após a irradiação, em canteiros sombreados. A sobrevivência de estacas, avaliada através do desenvolvimento de gemas V_1 foi protocolada 90 e 218 dias após o

plantio. A determinação de doses a serem aplicadas no projeto foi feita pela curva de sobrevivência das estacas irradiadas.

Após a escolha de doses, todas as estacas ou mudas V_1 sobreviventes foram transplantadas individualmente no campo experimental recém-desmatado (campo virgem e livre da fusariose) no INATAM (Matriz 1), com espaçamento de 2,5m x 2,5m, e a primeira poda para a obtenção de estacas V_2 com maior setor mutado foi efetuada 290 a 296 dias após o plantio.

Em 1978, após o experimento preliminar, 428 estacas com 2-3 gemas axilares da cultivar Cingapura foram irradiadas no CENA, com as doses escolhidas de 2,0 e 2,5 kR de raios-gama, levadas imediatamente ao INATAM e plantadas em canteiros sombreados. Devido à dificuldade técnica para o preparo do campo recém-desmatado, a área preparada foi suficiente para apenas 200 mudas V_1 , com espaçamento de 2,5m x 2,5m (Matriz 2).

A primeira poda foi realizada para todas as plantas V_1 sobreviventes destas 200 mudas transplantadas, 300 dias após o plantio no campo.

Em 1981 foram preparadas 500 estacas V_2 a partir de plantas V_1 com desenvolvimento normal no campo, originárias das estacas irradiadas em 1977 e 1978. Devido a erro na condução do trabalho, estas estacas foram misturadas, perdendo-se a identificação do material quanto à dose original aplicada da radiação-gama.

Todas as estacas V_2 foram plantadas individualmente em baldes de plástico de 5 litros e mantidas em ripado durante o crescimento.

A primeira inoculação artificial no solo foi realizada três meses após o plantio, em baldes com 5×10^4 propágulos/ml do patógeno, distribuindo-se 10ml por balde, sem ferimento de raízes. O inóculo foi produzido em BDA, após 15-20 dias de inoculação.

Em 1982, todas as mudas V_2 sobreviventes após a inoculação, no total de 43, foram transplantadas num campo experimental com alta incidência da doença, a fim de serem submetidas à inoculação natural.

Em 1984, as estacas V_3 foram produzidas a partir de três plantas sobreviventes (Matriz 3) após terem sido submetidas às inoculações artificial e natural, e o ensaio preliminar para caracterização foi instalado, em delineamento estatístico de blocos ao acaso com três repetições, em um campo experimental altamente infestado com o patógeno (Matriz 4) dentro do INATAM, próximo ao campo experimental para as plantas V_2 .

Em 1988, as plantas V_3 com melhor desempenho em termos de ausência de sintomas da fusariose, vigor de crescimento, formato e produtividade de sementes, foram selecionadas e as estacas V_4 destas foram multiplicadas por estaqueamento, sendo transplantadas nos campos experimentais da Cooperativa Agrícola Mista de Tomé-Açu (CAMTA) (Matriz 5C) e Fazenda Nakanishi (Matriz 5N), em blocos ao acaso, com três repetições, uma planta por repetição, a fim de melhor condução e acompanhamento do trabalho.

As plantas V_4 com melhor desempenho, avaliadas por técnicos e produtores de pimenta-do-reino, foram selecionadas e multiplicadas por estaqueamento para obtenção de mudas V_5 . Em 1993, as mudas V_5 foram transplantadas para campos de produção de dois produtores locais de pimenta-do-reino para avaliação, principalmente,

de resistência ou tolerância à fusariose e produtividade de sementes. Os experimentos foram instalados com delineamento estatístico completamente ao acaso, com diferentes números de repetição e de plantas por repetição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do experimento preliminar em 1977 para a determinação de doses de raios-gama a serem aplicadas são apresentados na Tabela 1. A partir de dados de sobrevivência obtidos 218 dias após o plantio de estacas V_1 , considerando-se conjuntamente a observação morfológica e de desenvolvimento das mesmas, concluiu-se que a dose mais indicada para a irradiação seria em torno de 2,5 kR, que poderia dar cerca de 70% de sobrevivência em relação à testemunha no campo. Assim, escolheram-se as doses de 2,0 e 2,5 kR de raios-gama para o experimento.

TABELA 1. Sobrevivência de estacas irradiadas de pimenta-do-reino, cultivar Cingapura, plantadas no INATAM, Tomé-Açu, Pará, em 1977.

| Dose (kR) | Nº de estacas irradiadas | Nº de estacas sobreviventes (90 dias após o plantio) | Nº de estacas sobreviventes (218 dias após o plantio) |
|-----------|--------------------------|--|---|
| 0 | 76 | 69 (100,0) | 63 (100,0) |
| 3 | 60 | 53 (76,8) | 32 (50,8) |
| 4 | 60 | 57 (82,6) | 26 (41,3) |
| 5 | 64 | 36 (52,2) | 22 (34,9) |
| 6 | 56 | 16 (23,2) | 16 (25,4) |
| 7 | 64 | 5 (7,2) | 5 (7,9) |

Em 1978, baseando-se nos resultados obtidos na Tabela 1, realizou-se a irradiação de estacas com 2,0 e 2,5 kR de raios-gama. A Tabela 2 mostra o número de estacas irradiadas e a sobrevivência no campo após o transplante.

TABELA 2. Número de estacas irradiadas e sobreviventes no campo recém-desmatado do INATAM, Tomé-Açu, Pará, em 1977/1978.

| Dose (kR) | Nº de estacas irradiadas e plantadas em canteiros | Nº de mudas transplantadas no campo (126 dias após a irradiação) | Nº de plantas sobreviventes no campo (372 dias após a irradiação) |
|-----------|---|--|---|
| 2,0 | 290 | 100 | 79 |
| 2,5 | 138 | 100 | 81 |

Do total de 200 mudas V_1 , transplantadas para o campo recém-desmatado do INATAM, 160 plantas sobreviveram cerca de um ano após a irradiação.

Para todas as plantas V_1 , tanto o material de 1977 quanto o de 1978, foi realizada a poda, técnica utilizada para aumentar o setor mutado em estacas V_2 originárias das plantas V_1 . Isto porque, após irradiação de gemas, que são multicelulares, espera-se o surgimento de brotos ou ramos quimeras (tecido misturado de setores mutados e não mutados ou tecido misturado com vários genótipos). A técnica de poda é altamente recomendada para o aumento do setor mutado de interesse para os melhoristas, de acordo com o objetivo do trabalho.

Assim, em 1981, 500 estacas V_2 foram obtidas a partir de 151 plantas V_1 , sobreviventes e podadas, originárias das estacas irradiadas em 1977 e 1978. Devido a descuido na identificação do material sobre a dose de irradiação aplicada, todas as estacas V_2 foram misturadas.

A primeira inoculação artificial foi realizada para estas 500 estacas V_2 , crescidas individualmente em baldes de plástico, com 5×10^4 propágulos do patógeno. Destas estacas inoculadas artificialmente em novembro de 1981, apenas 43 sobreviveram cerca de três meses (fevereiro de 1982) após a inoculação. A grande maioria destas sobreviventes poderia ter sido **escape**. De fato, somente três meses (maio de 1982) após o transplante no campo altamente infestado com o patógeno, 21 (4%) morreram com o sintoma aparente da fusariose, e apenas três (7%) sobreviventes foram observadas 30 meses (julho de 1984) após o transplante sem sintoma da doença. Estas três sobreviventes poderiam ter sido ainda **escapes**, mas continuaram vivas sem sintoma da doença, com aspecto normal de desenvolvimento, até 1989, durante mais de seis anos, quando esta Matriz 3 foi destruída acidentalmente.

Em 1984, a partir de três plantas sobreviventes (Matriz 3), designadas de A, B, e C, foram preparadas estacas V_3 , transplantadas posteriormente para campo infestado do INATAM, com três repetições.

A Tabela 3 mostra o número de estacas V_3 obtidas e sobreviventes durante vários períodos entre 1985 e 1988.

TABELA 3. Número de estacas V_3 transplantadas e sobreviventes entre 1985 e 1988.

| Planta matriz | Nº de estacas V_3 transplantadas (03/85) | Nº de plantas sobreviventes (12/85) | Nº de plantas V_3 sobreviventes (12/86) | Nº de plantas V_3 sobreviventes (11/87) | Nº de plantas V_3 sobreviventes (04/88) | Sobrevivência (%) |
|---------------|--|-------------------------------------|---|---|---|-------------------|
| A | 66 | 37 | 35 | 32 | 30 | 45.5 |
| B | 22 | 16 | 16 | 13 | 13 | 59.1 |
| C | 22 | 14 | 13 | 13 | 13 | 59.1 |
| Testemunha | 44 | 22 | 22 | 6 | 6 | 13.6 |

A partir dos dados obtidos na Tabela 3, a sobrevivência de plantas V_3 em abril de 1988, três anos após o plantio, foi de 45,5%, 59,1%, 59,1%, e respectivamente, para as plantas matrizes A, B e C da Matriz 3, enquanto que a sobrevivência de plantas controles foi de 13,6%.

As causas da morte das plantas V_3 podem ter sido diversas, como por exemplo, seca e doenças causadas por *Fusarium*, *Phytophthora*, e *Meloidogyne*, entre outras, ou combinações destas. Entretanto, esperava-se que as plantas V_3 , apesar do trabalho ter sido conduzido através de poda e estaqueamento, para aumentar gradativamente o tamanho do setor mutado com o genótipo induzido para resistência ou tolerância à fusariose, continuam ainda sendo quimeras, o que poderia ter causado a eventual morte de algumas plantas V_3 pela doença, dependendo do tamanho do setor.

Em 1988, na população V_3 (Matriz 4), foram selecionadas, após a avaliação visual, as plantas que não mostraram sintoma de fusariose, vigor em crescimento e alta produtividade de sementes. Essas plantas V_3 , devidamente identificadas, deram origem, após multiplicação por estaqueamento, às plantas V_4 transplantadas para os campos experimentais da CAMTA e Fazenda Nakanishi.

As plantas V_4 , denominadas de Matriz 5C (CAMTA) e Matriz 5N (Fazenda Nakanishi), foram avaliadas durante o crescimento, com o mesmo critério utilizado na Matriz 4 para seleção de plantas V_3 . Durante o período de 1988 a 1993, quando foi feita a seleção de plantas para a multiplicação de estacas V_5 , nenhuma planta com o sintoma da fusariose foi observada na Matriz 5C, apesar de que as plantas V_4 foram plantadas em um campo com alta incidência da doença.

Em 1993, selecionaram-se nove plantas V_4 para a obtenção de mudas V_5 para a avaliação no campo de produção de pimenta-do-reino. As mudas V_5 originárias da Matriz 5C foram plantadas no campo de produção da Fazenda Inada, e as da Matriz 5N foram plantadas na Fazenda Sakaguchi.

A Tabela 4 mostra o número de plantas V_4 selecionadas, número de mudas V_5 multiplicadas, número de repetição e sobrevivência observada em agosto de 1996.

TABELA 4. Número de plantas V_4 selecionadas na Matriz 5, número de mudas V_5 transplantadas e sobreviventes.

| Plantas da Matriz 3 | Nº de plantas V_4 selecionadas | Plantas V_4 selecionadas e numeradas | Fazenda Inada (08/96) | Fazenda Sakaguchi (08/96) | Sobrevivência (%) |
|---------------------|----------------------------------|--|-----------------------|---------------------------|-------------------|
| A | 4 | 25 | 22-3- 7 [*] | 30-5-18 [*] | 48.1 |
| | | 26 | 40-5-21 | 50-9-25 | 51.1 |
| | | 27 | 8-1- 5 | 30-5-14 | 50.0 |
| | | 45 | 24-3- 9 | 10-2- 3 | 35.3 |
| B | 5 | 121 | 8-1- 5 | 0 | 62.5 |
| | | 123 | 40-5-24 | 10-2- 9 | 66.0 |
| | | 132 | 24-3-14 | 20-3-10 | 54.5 |
| | | 135 | 8-1- 5 | 19-5-13 | 66.7 |
| C | 0 | 137 | 24-3-14 | 20-3-10 | 54.5 |
| | | - | - | - | - |
| Testemunha | | | 32-4-18 | 28-6-12 | 50,0 |

* 1º número... Número de mudas V_5 plantadas; 2º número... Número de repetições; 3º número... Número de sobreviventes.

Apesar do plantio de mudas V₅ ter sido feito quase no mesmo período (março a abril de 1994), algumas plantas morreram com sintoma da fusariose. Isto foi observado somente na Fazenda Sakaguchi. A planta V₄, em que nenhuma planta V₅ multiplicada mostrou sintoma da fusariose, será propagada e plantada em vários locais da região produtora de pimenta-do-reino para a avaliação final.

CONCLUSÕES

Após inoculações artificial e natural, três plantas V₂ sobreviventes foram obtidas. Estas plantas mostraram resistência à fusariose durante oito anos, até quando foram destruídas acidentalmente, e deram origem a vários ensaios posteriores.

A fim da obtenção de mutantes sólidos, resistentes à fusariose, mas com vigor de crescimento e boa produtividade de sementes, as seleções foram realizadas nas gerações V₃, V₄ e V₅, no período de 1984 a 1996, tendo sido selecionadas algumas plantas V₅ que serão utilizadas para ensaio comparativo de produtividade de sementes em vários locais da região de Tomé-Açu.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F.C.; CONDURÚ, J.M.P. **Cultura da pimenta-do-reino na região amazônica.** Belém: IPEAN, 1971. 149 p. (IPEAN. Fitotecnia, v.2, n.3).*
- ALBUQUERQUE, F.C.; HIRAKATA, K.; ANDO, A.; MENTEN, J.O.M. **Uso de radiação gama para obtenção de mutantes de pimenta-do-reino.** Belém: Embrapa-CPATU, 1981. 3 p. (Embrapa-CPATU. Pesquisa em Andamento, 44).*
- ANDO, A.; MENTEN, J.O.M.; TULMANN NETO, A.; ALBUQUERQUE, F.C.; HIRAKATA, K. **Obtenção de mutantes resistentes à fusariose em pimenta-do-reino (Piper nigrum L.).** In: REGIONAL WORKSHOP ON NUCLEAR TECHNIQUES IN CROP PRODUCTION. **Proceedings.** São Paulo: OEA/CIEN/CENA, 1984. 3p.*
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, Rio de Janeiro: IBGE, 1994.*