

EFEITO DE FILTRADO DA CULTURA DE FUNGO NO CULTIVO *IN VITRO* DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.) VISANDO RESISTÊNCIA E/OU TOLERÂNCIA À FUSARIOSE.

ALVES, Sergio Augusto Oliveira¹ ; SILVA, Clevea Rossana Ferreira² ; AMARAL, Leila Márcia Souza³ ; MELO, Elane Cristina Amoras⁴; LEMOS, Oriel Filgueira⁵.

INTRODUÇÃO

A pimenteira-do-reino(*Piper nigrum* L.) é um arbusto trepador, perene, da família das Piperáceas, sendo uma cultura milenar explorada ao longo dos séculos. A cultura da pimenteira-do-reino ao longo de 70 anos fez do Estado do Pará o maior produtor nacional desta especiaria, sendo um produto tipicamente de exportação. Esta especiaria apresenta grande oscilação de preço no mercado internacional, às vezes estimulando e outras desestimulando o cultivo (Lemos, 2003).

A eficiência da cultura em relação ao ciclo produtivo começou a decrescer em meados da década de sessenta devido a disseminação da fusariose, doença que tem como agente infeccioso o fungo *Fusarium solani* f. sp. piperis, que ataca o sistema radicular da planta e causa secamento da parte aérea (Albuquerque et al.,1976).

Dessa forma, é necessário desenvolver tecnologias visando o aumento da produtividade e/ou lucratividade. Para tanto, a obtenção das cultivares mais produtivas, com características de tolerância a doença, através de técnicas de culturas de tecidos, mais especificamente a micropropagação, são importantes instrumentos tanto para a multiplicação em larga escala de mudas sadias e livres de doenças quanto para a clonagem de plantas selecionadas com vantagens agronômicas.

MATERIAL E METODOS

As atividades de pesquisas foram desenvolvidas, em parte, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, Piracicaba, São Paulo e no laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. Inicialmente houve a multiplicação de plantas *in vitro* como fornecedoras de explantes. As gemas foram transferidas para meio básico de MS suplementado com 0,5 mgL⁻¹ de BAP e 0,2 mgL⁻¹ de IAA, com agente gelificante Phytigel (0,2%), sacarose 0,3% sob condições de temperatura de 25±3°C, intensidade de iluminação de 25 mol.s⁻¹.cm⁻² e fotoperíodo de 16h. luz.dia⁻¹. Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, com pelo menos três repetições e cada repetição representada por um frasco de 300 mL com 50 mL de meio de cultura e cinco explantes (gemas e ápices caulinares).

¹ Estagiário EMBRAPA/UFPA, Graduando em Ciência Biológicas- Universidade Federal do Pará (UFPA)

² Estagiária EMBRAPA, UFRA, Graduanda em Agronomia - Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

³ Bolsista CNPq/EMBRAPA/UFRA, Agronomia 7º Semestre

⁴ Bolsista FUNTEC/EMBRAPA/UFRA, Agronomia 7º Semestre

⁵ Pesquisador Dr. em Melhoramento Genético de Plantas, Embrapa Amazônia Oriental
II Seminário de Iniciação Científica da UFRA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004

As gemas *in vitro* foram irradiadas com doses de 10 e 20 Gy de radiação gama no CENA/USP, e aquelas sobreviventes passaram por pelo menos três ciclos de subcultivo a cada 4 a 6 semanas para eliminação de quimerismo, e as gemas das plantas multiplicadas foram submetidas à “screening” *in vitro* de acordo com metodologia estabelecida por Lemos (2003), que adiciona filtrado do fungo em meio de cultura de multiplicação de gemas no processo de micropropagação para seleção de gemas com potencial para tolerância a doença. As gemas sobreviventes formaram plantas que foram trazidas para o Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. As gemas dessas plantas foram inoculadas em meio básico de cultura e foram multiplicadas para se avançar geração e eliminar o quimerismo, ainda, existente. Foram realizados pelo menos mais três subcultivos em meio básico de cultura MS, suplementado com BAP e IAA (0,5 e 0,2 mgL⁻¹, respectivamente), phytigel 0,2%, sacarose 3%, pH 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C por 15 minutos e cultivados sob as mesmas condições supracitadas.

Para continuar os testes de seleção, as gemas foram transferidas para dois tratamentos. No primeiro utilizou-se o filtrado proveniente do cultivo do fungo *Fusarium solani* f. sp *piperis* crescido em meio líquido Czapek-Dox. por três semanas e posteriormente filtrado em algodão e gaze, e autoclavado para ser adicionado ao meio de cultura MS na concentração de 55%. No segundo, as gemas foram transferidas para meio básico de cultura MS, suplementado com BAP e IAA (0,5 e 0,2 mgL⁻¹, respectivamente), phytigel 0,2%, sacarose 3%.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Após quatro semanas foram contabilizadas o número de gemas sobreviventes em cada tratamento. No tratamento sem filtrado do fungo, o número de gemas variou de 1 a 4, sendo que a média ficou em torno de 2.0552. O meio com filtrado de fungo 55%, o número de gemas variou também de 1 a 4, sendo que a media foi um pouco menor 1.9867 cuja diferença não foi significativa ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 1) .

Tabela 1. Análise de variância e teste de comparação de média quanto a diferenciação de gemas por explante em meio básico de cultura MS, BAP (0,5 mg.L⁻¹) e IAA (0,2mg.L⁻¹) em sacarose (0,3%) com filtrado de fungo 55% e sem filtrado.

C. VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	TRAT.	MÉDIAS
TRATAMENTOS	1	0.1219	0.1219	0.25 NS	FIL.Fungo	1.9867 A

¹ Estagiário EMBRAPA/UFPA, Graduando em Ciência Biológicas- Universidade Federal do Pará (UFPA)

² Estagiária EMBRAPA, UFRA, Graduanda em Agronomia - Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

³ Bolsista CNPq/EMBRAPA/UFRA, Agronomia 7º Semestre

⁴ Bolsista FUNTEC/EMBRAPA/UFRA, Agronomia 7º Semestre

⁵ Pesquisador Dr. em Melhoramento Genético de Plantas, Embrapa Amazônia Oriental
II Seminário de Iniciação Científica da UFRA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004

MED.GERAL = 2.0210; C.V= 34.79 Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que o desenvolvimento de novas gemas a partir de plantas selecionadas sobreviventes ao cultivo *in vitro* com filtrado de fungo, não difere se cultivado novamente em meio com ou sem o filtrado do fungo, na etapa de multiplicação de gemas do processo de micropropagação da pimenteira-do-reino, e que a utilização de meio seletivo contra a doença fusariose reduz ou retarda o processo de desenvolvimento de novas gemas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F.C de; FERRAZ, S. Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococa* e a sua patogenicidade a pimenta-do-reino. **Experimentiae**, v.22, p 133- 151, 1976.

LEMO, O.F. de; Mutagênese e tecnologia in vitro no melhoramento genético de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Piracicaba, 2003.159p.Tese (Dr.)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

¹ Estagiário EMBRAPA/UFPA, Graduando em Ciência Biológicas- Universidade Federal do Pará (UFPA)

² Estagiária EMBRAPA, UFRA, Graduanda em Agronomia - Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

³ Bolsista CNPq/EMBRAPA/UFRA, Agronomia 7º Semestre

⁴ Bolsista FUNTEC/EMBRAPA/UFRA, Agronomia 7º Semestre

⁵ Pesquisador Dr. em Melhoramento Genético de Plantas, Embrapa Amazônia Oriental
II Seminário de Iniciação Científica da UFRA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004