



14<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

## **AVALIAÇÃO DE MATRIZEIROS DE PIMENTA DO REINO QUANTO ÀS VIROSES NO ESTADO DO PARÁ**

Késsia de Fátima da Cunha Pantoja<sup>1</sup>, Alessandra de Jesus Boari<sup>2</sup>, Ana Carolina Sonsim de Oliveira<sup>3</sup>,  
Cristiane Melo de Sousa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduanda da UFRA, Bolsista PIBIC/CNPq, kessiapantoja@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Pesquisadora/Orientadora, Embrapa Amazônia Oriental. e-mail: ajboari@cpatu.embrapa.br

<sup>3</sup>Bolsista DTI/CNPq/FINEP.

<sup>4</sup>Graduanda da UFRA, bolsista ITI/CNPq/MAPA.

**Resumo:** No Brasil, o estado do Pará é o principal produtor de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) com mais de 90% da produção. Os maiores estados produtores além do Pará são: Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, Maranhão, Ceará e Paraíba. Algumas doenças podem afetar a produção de frutos, dentre elas as viroses causadas por *Cucumber mosaic virus* (CMV) e *Piper yellow mottle virus* (PYMoV). Em recentes estudos em lavouras de pimenta-do-reino verificou-se alta incidência de plantas infectadas por vírus, muitas delas compradas em viveiristas credenciados. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar matrizeiros de pimenta-do-reino dos viveiristas quanto à presença de viroses. Foram coletadas 194 amostras de matrizes das cultivares Kottanadan, Guajarina, Cingapura, Pannyur, Apra, Kuthiravaly, Iaçará, Balankota e Bragantina, provenientes de 05 produtores distribuídos nos municípios de Mocajuba, Baião e Tomé-Açu no estado do Pará. Foi observada a presença do PYMoV em todas as propriedades avaliadas, mostrando assim, a importância da reestruturação do setor de produção de mudas de pimenta-do-reino no estado do Pará.

**Palavras-chave:** cultivares, mudas, *Piper nigrum* L., vírus

### **Introdução**

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é a especiaria mais consumida no mundo e é de grande importância para o comércio agrícola internacional, sendo o Vietnã o maior produtor e exportador, seguido da Índia, Indonésia e Brasil. A pimenta-do-reino participa com cerca de 25% do mercado de exportação de produtos tradicionais do estado do Pará. A baixa produtividade de pimenta-do-reino se deve a vários fatores dentre eles a ocorrência de doenças como as viroses. No Brasil, já foram relatados os vírus *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) e um isométrico ainda



14<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

não identificado, sendo os dois primeiros verificados no estado do Pará. O CMV e PYMoV causam sintomas de mosaico, deformação foliar, clorose de nervuras, definhamento da planta e dano na produção (Albuquerque et al., 1999; Brioso et al., 2000). Há relatos de plantas com sintomas de viroses nas principais áreas produtoras do Pará: Tomé-Açu, Santa Izabel do Pará, Acará, Altamira, Abaetetuba e Baião, agravando as perdas de produção da cultura. Estudos recentes mostraram altas incidências de viroses em lavouras de pimenta-do-reino, sendo que a maioria das mudas foi obtida de viveiristas credenciados e não credenciados. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar matrizeiros de pimenta-do-reino do estado do Pará quanto à presença de viroses. Os dados obtidos subsidiarão ações de reestruturação do setor produtivo de mudas no Estado.

### Material e Métodos

Foram avaliadas amostras de matrizeiros de 3 viveiristas credenciados e 2 não credenciados no estado do Pará. Para isso, foram coletadas 194 amostras de matrizeiros de pimenta-do-reino das cultivares Kottanadan, Guajarina, Cingapura, Pannyur, Apra, Kuthiravaly, Iaçará, Balankota e Bragatina provenientes de Mocajuba, Tomé-Açu e Baião. As amostras foram colocadas em sacos plásticos, acondicionadas em caixa de isopor e encaminhadas imediatamente para o Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental para a realização das análises.

A extração de ácido nucléico total foi feita a partir de folhas novas, segundo o protocolo de Gibbs e Mackenzie (1997) modificado. Posteriormente, foi realizado o RT-PCR para detectar o CMV e o PCR para o PYMoV. Para isso fez-se inicialmente o cDNA utilizando a transcriptase reversa MMLV (RT) e, posteriormente, para a PCR foram utilizados 5 µl do cDNA, 5 uL do tampão de reação 10X, 3 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,5µL de dNTP (10 mM), 0,15 uL da Taq DNA Polimerase, 0,25µl dos *primers* específico para o CMV e 5,6 uL de água ultra-pura. A reação consistiu de 30 ciclos de 94 °C/1 min, 55 °C/1 min e 72 °C/1 min e 30 s, com duração de um minuto além de uma extensão de 72 °C por 5 minutos. Para detectar o PYMoV fez-se o PCR. Foram utilizados 5 µl do ácido nucléico total, 5 uL do tampão de reação 10X, 3 µL de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,5µL de dNTP (10 mM), 0,25 uL da Taq DNA Polimerase, 0,25µl dos *primers* específicos para o PYMoV e 5,6 uL de água ultra-pura. A reação consistiu de 30 ciclos de 94 °C/1 min., 49,5 °C/1 min. e 72 °C/1 min e 30 s, com duração de um minuto além de uma extensão de 72 °C por 5 minutos. Fragmentos de DNA foram observados e fotografados sob luz UV após a corrida de eletroforese corado com GelRed.



### Resultados e Discussão

Observou-se que apenas dois dos cinco produtores de mudas visitados possuem um jardim clonal para produção de mudas. Os demais obtêm as estacas das lavouras de produção de frutos.

Na avaliação dos matrizeiros verificou-se que algumas plantas assintomáticas apresentaram-se positivas para PYMoV (Figura 1). Assim, a sintomatologia não pode ser o único método de diagnose de pimenta-do-reino em relação às viroses. Nenhuma amostra foi positiva para o CMV. Entretanto, muitas amostras apesar de apresentarem sintomas típicos de viroses como mosaico, *fleck*, clorose das nervuras, ondulamento foliar mostraram-se negativas para os dois vírus testados. Indicando assim, uma terceira espécie viral ou variante dos vírus testados em que os *primers* não permitem sua detecção. Mesmo assim, das 194 amostras avaliadas 37,1% sinalizaram positivamente para PYMoV por meio do teste de PCR, número altíssimo para matrizeiros fornecedores de mudas de pimenta-do-reino (Tabela 1). Outros três viveiristas serão avaliados, mas os resultados obtidos já mostram a gravidade da situação de produção de mudas no Estado.

Outro fato importante observado foi o desconhecimento dos sintomas de viroses por parte dos viveiristas, extensionistas, fiscais e agentes de defesa, o que contribui com a produção e disseminação de mudas infectadas no estado do Pará.

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24

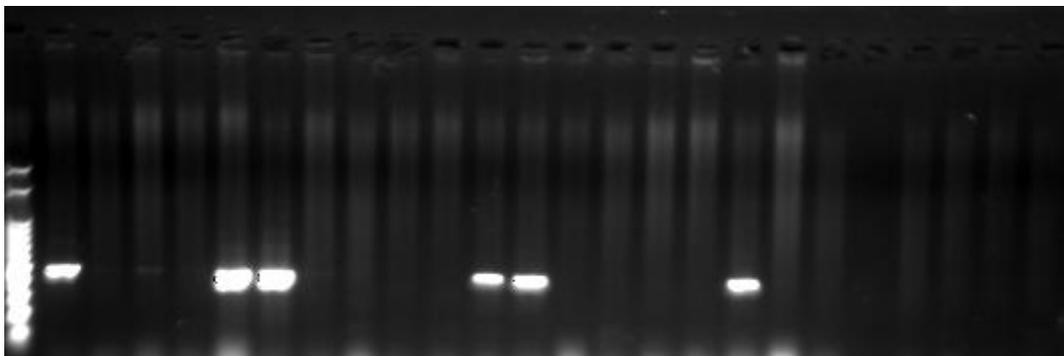


Figura 1 Perfil eletroforético de PCR de *Piper yellow mottle virus* das amostras de matrizeiros de pimenta-do-reino do Pará. M. marcador Kb ladder, 1. controle positivo PYMoV; 2. controle negativo de *P. nigrum*, 3 a 24 amostras de matrizeiros provenientes de municípios do Pará.



14<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

Tabela 1 Avaliação de amostras de pimenta-do-reino quanto à presença de PYMoV, provenientes dos municípios do Estado do Pará.

Municípios	Nº de propriedades	Nº de amostras	Nº de amostras com PYMoV	Nº de amostras com CMV
Mocajuba	03	99	38	00
Baião	01	16	04	00
Tomé -Açú	01	79	30	00

### Conclusões

Em todas as lavouras avaliadas foi detectada a presença somente do PYMoV e muitas das mudas de pimenta do reino fora adquiridas já infectadas. Assim, faz-se necessário organizar o setor produtivo de mudas do estado do Pará. Além disso, observou-se que a sintomatologia não pode ser utilizada como único método de diagnose.

### Agradecimentos

À ADEPARÁ pelo importante apoio na coleta das amostras. Ao FINEP, CNPq e MAPA pelo apoio financeiro.

### Referências Bibliográficas

ALBUQUERQUE, F. C.; TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L.S.; DUARTE, M. L. R. ; BRIOSO, P. S. T. ; REZENDE, J. A. M. ; KITAJIMA, E. W. Evidências preliminares da ocorrência do vírus do mosqueado da pimenteira-do-reino (*Piper yellow mottle virus* - PYMoV) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 25., n.1, p. 36-36, 1999.

BRIOSO, P. S. T.; POZZER, L.; SILVA, S.; KITAJIMA, E. W.; POLTRONIERI, L. S.; DUARTE, M. L. R. Amplificação de fragmento específico do PYMoV a partir de pimenta do reino. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25. p. 438-438, 2000. (resumo).

GIBBS, A.; MACKENZIE, A. A primer pair for amplifying part of the genome of all potyvirids by Rt-PCR. **Journal of virology methods**, v. 63, p. 9-16, 1997