

PIPER ADUNCUM ESPÉCIE NATIVA DA AMAZÔNIA BRASILEIRA, HOSPEDEIRA DE NECTRIA HAEMATOCOCCA F. SP. PIPERIS*

FERNANDO C. ALBUQUERQUE¹, MASAHIRO HAMADA² & MARIA L.R. DUARTE¹

¹Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (EMBRAPA-CPATU), Caixa Postal, 48, 66095-100, Belém, PA;

²Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA, Caixa Postal, 48, 66095-100, Belém, PA

(Accito para publicação em 17/03/97)

ALBUQUERQUE, F.C.; HAMADA, M. & DUARTE, M.L.R. *Piper aduncum* espécie nativa da amazônia brasileira, hospedeira de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. Fitopatologia brasileira 22:201-204. 1997.

RESUMO

A cultura da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) continua em expansão no Estado do Pará. As epidemias de fusariose causadas por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*) vem ocorrendo tanto em áreas novas como em áreas de replantio. Em data recente o fungo patogênico *N. haematococca* f. sp. *piperis* foi isolado de plantas da espécie nativa *P. aduncum*. Identificou-se a forma *specialis* através de culturas em batata-dextrose-ágar (BDA), de exame ao microscópio e inoculações em mudas de *Piper* spp. sadias. As inoculações de isolados do fungo obtidos de *P. aduncum* em mudas de *P. nigrum* resultaram em infecções, ocasionando necrose dos tecidos e estendendo-se acima e abaixo do ponto de inoculação. Para identificação mais segura, foram feitos pareamentos entre culturas monoascospóricas obtidas de isolados de *P. aduncum* e

P. nigrum e fertilizações cruzadas de primórdios de peritécios de isolados de ambos hospedeiros com suspensão de macroconídios. Os pareamentos e as fertilizações entre culturas monoascospóricas em BDA com fatores de compatibilidade opostos resultaram em peritécios férteis, 10 a 15 dias após início do ensaio, em presença de luz, com periodicidade de 12 horas e à temperatura de 25°C. A espécie *P. aduncum* possui larga distribuição em áreas de vegetação secundária no Estado do Pará, concorrendo para disseminação e perpetuação desse fitopatógeno no ambiente natural, próximo de áreas cultivadas com a pimenta-do-reino. Trata-se da primeira constatação de hospedeiro nativo de *N. haematococca* f. sp. *piperis*, na Amazônia

Palavras-chave: *Piper nigrum*, pimenta-do-reino, *Fusarium solani* f. sp. *piperis*.

ABSTRACT

Piper aduncum new host of *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* within wild *Piper* population in the Brazilian Amazon

Nectria haematococca f. sp. *piperis* has been detected infecting only black pepper (*Piper nigrum* L.) in Brazil. Recently, the pathogen was isolated from infected stems of *P. aduncum* L., a very common wild species of the native vegetation in the State of Pará. The identification of the pathogen was made through examination under microscope, cross inoculation on black pepper plants and reciprocal fertilisation between wild pepper isolates and tester-clones of *N. haematococca* f. sp. *piperis* isolated from *P. nigrum*. All four isolates of *N. haematococca* from *P. aduncum* induced

symptoms on healthy plants of the same species. Reciprocal fertilisation among those isolates and tester-clones produced fertile perithecia after 10 to 15 days under 12 hours illumination at 25°C. As *P. aduncum* is wide spread in the secondary vegetation all over the State of Pará, it is possible that this species has become the primary inoculum source of this pathogen for new black pepper plantations. This is the first record of *N. haematococca* f. sp. *piperis* infecting wild species in the Brazilian Amazon.

A doença mais importante da cultura da pimenta-do-reino no Estado do Pará é ocasionada pelo fungo *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* (anamórfico *Fusarium solani* f. sp. *piperis*). Todos os isolados desse patógeno, desde a constatação em 1957 até 1994 foram obtidos de tecidos infec-

tados de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Recentemente o fungo foi isolado de plantas de *P. aduncum* L., infectadas em condições naturais, apresentando sintomas de podridão do caule (Fig. 1). A espécie *P. aduncum* apresenta larga distribuição em área de vegetação secundária no Estado do Pará, principalmente em áreas de baixada, próximo de áreas cultivadas com pimenta-do-reino, concorrendo para disseminação e perpetuação desse fitopatógeno no ambiente natural.

* Trabalho subvencionado pelo Convênio EMBRAPA-CPATU/ JICA (Japan International Cooperation Agency)



FIG. 1 - Podridão do caule de *Piper aduncum* causada por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*.

É uma espécie arbustiva, com espigas recurvadas, ocorrendo em reboleiras, sendo que em algumas áreas a concentração é bastante expressiva.

A infecção ocorre em plantas de algumas reboleiras, conduzindo ao apodrecimento dos tecidos do caule. Sobre áreas de tecido necrosado, podem desenvolver-se peritécios vermelhos do teleomórfico do patógeno. É possível que existam fontes de resistência nessa espécie, no ambiente nativo, pois a maioria das plantas de uma reboleira permanecem sadias.

Antes de se constatar hospedeiros nativos do fungo patogênico, julgava-se que essa *forma specialis* teria se originado de mutação genética ocorrida na população de *F. solani* em solos brasileiros, devido à pressão de seleção após o cultivo intensivo de uma única cultivar de pimenta-do-reino.

O principal objetivo do trabalho foi provar que *P. aduncum* pode ser fonte de inóculo do fungo *N. haematococca* f. sp. *piperis*, para *P. nigrum*.

Isolamento do patógeno - Os isolamentos foram feitos de tecidos infectados, em agar a 2%, de esporos do estágio anamórfico presentes na superfície das lesões e de peritécios e ascósporos formados sobre tecidos lesados do caule de *P. aduncum*. Após o desenvolvimento inicial, porções do micélio foram transferidas para tubos de ensaio contendo meio de

cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e a seguir incubado a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Cerca de 15 a 30 dias após, selecionaram-se as culturas que apresentaram peritécios, para obtenção de culturas monoascospóricas visando cruzamentos entre isolados provenientes de *P. aduncum* com clones-teste de pimenta do reino.

Obtenção de culturas monoascospóricas - Obtiveram-se culturas monospóricas a partir de ascósporos. Selecionou-se uma cultura do fungo desenvolvida em batata-dextrose-ágar obtida de pimenta-do-reino proveniente do município de Ipixuna, PA, com produção de peritécios férteis. Em água destilada esterilizada, foram obtidas suspensões diluídas de ascósporos exsudados através de ostíolos de peritécios maduros. As suspensões foram distribuídas em placas de Petri, contendo ágar-água a 2% e deixadas em repouso por 10 minutos. Após este período, eliminou-se o excesso de suspensão de cada placa, as quais foram mantidas inclinadas por duas horas, para a eliminação mais rigorosa do excesso de água superficial. Depois de seis a doze horas, ascósporos no estágio inicial de germinação, foram transferidos, isoladamente, em condições assépticas, para tubos com batata-dextrose-ágar, que foram mantidas durante 15 a 30 dias a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

As culturas monoascospóricas de isolados de *P. aduncum*, oriundos dos municípios de Apeú, Americano, Macapazinho e Ananindeua, foram obtidas de forma semelhante.

Seleção de culturas monoascospóricas distintas quanto à sexualidade e fatores de compatibilidade heterotática -

Obtiveram-se 30 culturas monoascospóricas desenvolvidas no meio de BDA, do isolado proveniente do município de Ipixuna, PA. Selecionaram-se seis dessas culturas para cruzamentos nas combinações possíveis de acordo com a técnica proposta por Hansen & Snyder (1943). Os cruzamentos foram feitos através de fertilização de primórdios de peritécios de um isolado em BDA, com 12 a 15 dias de idade, por macroconídios de outro isolado, com idêntico período de desenvolvimento no mesmo meio de cultura. Para a fertilização foi feita uma suspensão de macroconídios do isolado, a qual foi vertida no tubo de ensaio com os primórdios a serem fertilizados. Após cinco a dez minutos o excesso da suspensão foi eliminado. As culturas fertilizadas permaneceram nas condições de temperatura e luminosidade descritas para o isolamento do patógeno. Após um período de 15 a 30 dias, avaliou-se a produção de peritécios por tubo. Verificou-se que, quanto à sexualidade, cinco culturas foram hermafroditas e uma masculina e com relação ao fator de compatibilidade heterotática, quatro apresentaram o fator (-) e duas o fator (+). As hermafroditas cruzaram nos dois sentidos, quando possuíam fatores de compatibilidade opostos. A masculina cruzou apenas em um sentido (Tabela 1).

Foram confirmados os resultados obtidos, anteriormente, por Albuquerque & Ferraz (1976a) nos quais foi verificado que, a maioria dos isolados monoascospóricos de *N. haematococca* f. sp. *piperis*, são hermafroditas e os fatores de compatibilidade heterotática apresentam-se bem distribuídos no ambiente de ocorrência do fungo. Essas condições possibilitam o desenvolvimento freqüente de peritécios em pimentais afetados pela fusariose (Duarte & Albuquerque, 1986; Hamada *et al.*, 1986).

TABELA 1 - Cruzamentos entre seis culturas monospóricas de *N. haematococca* f. sp. *piperis*, do isolado Ipixuna PA, espermatizados reciprocamente.

Função da cultura no cruzamento		Produção de peritécios	Função da cultura no cruzamento		Produção de peritécios
♂	♀		♂	♀	
Ipix-1 x Ipix-2		-	Ipix-2 x Ipix-1		+
Ipix-1 x Ipix-3		-	Ipix-3 x Ipix-1		-
Ipix-1 x Ipix-4		+	Ipix-4 x Ipix-1		+
Ipix-1 x Ipix-5		+	Ipix-5 x Ipix-1		+
Ipix-1 x Ipix-6		+	Ipix-6 x Ipix-1		+
Ipix-2 x Ipix-3		+	Ipix-3 x Ipix-2		-
Ipix-2 x Ipix-4		-	Ipix-4 x Ipix-2		-
Ipix-2 x Ipix-5		-	Ipix-5 x Ipix-2		-
Ipix-2 x Ipix-6		-	Ipix-6 x Ipix-2		+
Ipix-3 x Ipix-4		+	Ipix-4 x Ipix-3		+
Ipix-3 x Ipix-5		+	Ipix-5 x Ipix-3		+
Ipix-3 x Ipix-6		+	Ipix-6 x Ipix-3		-
Ipix-4 x Ipix-5		-	Ipix-5 x Ipix-4		-
Ipix-4 x Ipix-6		-	Ipix-6 x Ipix-4		-
Ipix-5 x Ipix-6		-	Ipix-6 x Ipix-5		-

Suspensões de esporos, preparadas das culturas que funcionaram como espermatizadoras (♂), foram usadas para fertilizar os primórdios de peritécios das culturas receptoras (♀).

Inoculações cruzadas - No teste de patogenicidade inocularam-se mudas de pimenta-do-reino e de *P. aduncum* com isolado obtido do próprio hospedeiro. Utilizou-se a técnica de fermento do caule herbáceo, através de punctura e deposição de gotas de suspensão de macroconídios na concentração de $4 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$. A necrose dos tecidos foi observada cerca de 15 a 20 dias, após a inoculação, acima e abaixo do ponto de inoculação, no caule de ambas espécies, comprovando a patogenicidade dos isolados. Para inoculação cruzada preparou-se suspensão de macroconídios do isolado de *P. aduncum*, colocando-se sobre punctura feita no caule de mudas de pimenta-do-reino, com dois a três meses de idade. Foram feitas avaliações 10 a 20 dias depois, considerando-se a extensão de tecidos necrosados acima e abaixo do ponto de inoculação, comprovando-se a patogenicidade dos isolados obtidos de *P. aduncum* em pimenta-do-reino (Tabela 2).

Os resultados indicaram que os isolados de *P. aduncum* ocasionaram infecções em tecidos do caule de pimenta-do-reino, embora apresentando virulência menor do que alguns isolamentos da pimenta-do-reino (Tabela 2). Como os isolados de *P. aduncum* apresentaram patogenicidade à pimenta-do-reino, devem ser considerados como pertencentes à forma *specialis* descrita em pimenta-do-reino (Albuquerque & Ferraz, 1976b).

Cruzamentos entre isolamentos obtidos de *P. aduncum* e *P. nigrum* - Levando em consideração os conceitos estabelecidos por Matuo & Snyder (1973) de que *formae speciales* diferentes de *Fusarium solani* não se cruzam, foram feitos

TABELA 2 - Patogenicidade de isolados de *N. haematococca* f. sp. *piperis* oriundos de *P. nigrum* e *P. aduncum* em mudas de pimenta-do-reino.

Isolamento	Origem	Formação de lesão após inoculação no caule	
		7 dias (mm)	14 dias (mm)
1. Ma-As. 1	Macapazinho, PA	10,6	48,4
2. Ap-Pa	Apeú, PA	9,3	51,0
3. Am-Pa	Americano, PA	12,5	81,2
4. Adc-An-1	Ananindeua, PA	8,5	30,1
5. Ipix-3	Ipixuna, PA	7,4	111,6
6. Cp.S-4	Capitão Poço, PA	13,7	103,7
7. K-1	Castanhal, PA	6,5	23,4
8. L-1	Linhares, ES	10,0	63,1

Isolados de número 1 a 4 são oriundos de *P. aduncum* enquanto que os de número 5 a 8 provém de *P. nigrum*

cruzamentos entre isolamentos de *P. nigrum* e *P. aduncum*. Isolados do fungo obtidos de *P. aduncum* e oriundos de diferentes municípios foram cruzados com dois isolados de *P. nigrum*, hermafroditas e com fatores de compatibilidade heterotática, previamente determinados (Tabela 3).

Utilizou-se a técnica de fertilização de primórdios de peritécios por macroconídios em suspensão em água. Como ocorreu produção de peritécios férteis entre cruzamentos de isolados do fungo dos dois hospedeiros, conclui-se que o patógeno isolado de *P. aduncum* deve ser identificado como *N. haematococca* f. sp. *piperis*. Este hospedeiro deve contribuir como fonte de infecção primária do patógeno na cultura da pimenta-do-reino, em regiões onde a espécie tem distribuição natural próximo de áreas exploradas com cultura dessa especiaria.

TABELA 3 - Produção de peritécios férteis após cruzamentos entre clones-teste do patógeno, isolados de *P. nigrum* e de *P. aduncum* para identificação da forma *specialis* de *N. haematococca* ocorrente nos dois hospedeiros.

Clones-teste	Isolados de <i>N. haematococca</i> f. sp. <i>piperis</i> oriundos de <i>P. aduncum</i>			
	Ma-As.1	Ap-Pa	Am-Pa	Adc-An-1
Ipix-3 (H ⁺)	P	A	P	A
Ipix-5 (H)	A	P	A	P

P = Produção de peritécios férteis A = Peritécios estéreis H = Hermafrodita (+) e (-) = Fatores de compatibilidade heterotática

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, F.C. & FERRAZ, S. Heterotalismo e sexualidade em *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Experientia* 22:152-164. 1976a
- ALBUQUERQUE, F.C. & FERRAZ, S. Características morfológicas e fisiológicas de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* e sua patogenicidade à pimenta-do-reino. *Experientia* 22:133-151. 1976b.

- DUARTE, M.L.R. & ALBUQUERQUE, F.C. Secamento dos ramos da pimenta-do-reino. *In*: Simpósio do Trópico Úmido, I, v. 4. EMBRAPA, Brasília, 1986 p.383-394. (EMBRAPA. Documentos, 38).
- HANSEN, H.N. & SNYDER, W.C. The dual phenomenon and sex in *Hypomyces solani* f. *cucurbitæ*. *Amer. J. Botany* 30:419-422. 1943.
- HAMADA, M.; UCHIDA, T. & TSUDA, M. Ascospore dispersion of the causal agent of Nectria blight of *Piper nigrum*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 54:303-308. 1988.
- MATUO, T. & SNYDER, W.C. Use of morphology and mating populations in the identification of *formæ speciales* in *Fusarium solani*. *Phytopathology* 63:562-565. 1973.
-

96062