

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE DIFERENTES CULTIVARES DE PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.)

Lana Roberta Reis dos SANTOS¹; Oriel Filgueira de LEMOS²; Simone de Miranda RODRIGUES³

Resumo

A pimenta-do-reino é um dos principais produtos agrícola de exportação do Estado do Pará. Porém, a ocorrência de viroses e principalmente, a fusariose tem dizimado grandes áreas de plantio e reduzido o ciclo da cultura. Outro entrave é a carência de mudas certificadas, levando os agricultores a utilizarem mudas de má qualidade. Novas cultivares têm sido lançadas e métodos eficientes de propagação de plantas estão sendo otimizados. Este trabalho teve por objetivo descrever a germinação *in vitro* de sementes de quatro cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Os frutos das cultivares Karimunda; Bragantina (frutos de quatro plantas); Guajarina; e Apra foram coletados e no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental foram submetidos à assepsia para em seguida, as sementes serem inoculadas em meio MS. As análises foram aos 30, 37, 50, 60, 67 e 80 dias de cultivo. As cultivares estudadas são viáveis para germinação *in vitro* com destaque para Bragantina e Apra.

Palavras-chave: Germinação *in vitro*, cultivares de pimenta-do-reino.

Área do conhecimento: Área: Ciências Biológicas; Sub Área: Botânica; Linha de pesquisa: Reprodução Vegetal.

Introdução

A pimenta-do-reino é um dos principais produtos agrícola de exportação do Estado do Pará com mais de 30 mil hectares de área plantada e mais de 48 milhões de pés, os quais precisam ser renovados em média a cada seis anos. Isto se deve basicamente à ocorrência de viroses e principalmente da fusariose que tem dizimado grandes áreas de plantio e reduzido o ciclo da cultura. Tem sido um desafio o controle da doença, pois o material genético disponível da espécie, *Piper nigrum* L., tem uma estreita variabilidade genética e não apresenta genes que expressem mecanismos de resistência à infecção do agente patogênico *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (Duarte & Albuquerque, 1999), tornando a doença um fator de risco no empreendimento da pipericultura no Brasil.

A cultura da pimenta-do-reino desde a sua introdução no Brasil na década de 1930 tem sido suporte econômico de pequenos e grandes produtores da região amazônica. O Pará produz cerca de 94% da pimenta-do-reino exportada pelo Brasil (Produção...2004) e nos primeiro seis meses de 2004, o Brasil exportou 14.633 toneladas de grãos de pimenta-do-reino, gerando recursos de U\$ 22.147.736,00 (ESTATÍSTICA...2004).

A falta de mudas certificadas tem levado os agricultores a utilizarem mudas de má qualidade, com conseqüências

¹Acadêmica do Curso de Licenciatura Plena em Biologia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará; Bolsista do PIBIC-CNPq; E-mail: ana.robert@hotmail.com

²Doutor da Embrapa Amazônia Oriental; Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/nº, Caixa Postal, 48 Belém, PA - Brasil CEP 66095-100; E-mail: oriel@cpatu.embrapa.br

³Doutora da Embrapa Amazônia Oriental; Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/nº, Caixa Postal, 48 Belém, PA - Brasil CEP 66095-100; E-mail: simone@cpatu.embrapa.br

preocupantes na formação de pimentais, fadados a ter cada vez mais o ciclo econômico produtivo reduzido. Novas cultivares têm sido lançadas e métodos eficientes de propagação de plantas estão sendo otimizados para produção de mudas vigorosas em grande proporção, tecnologia esta, pronta para ser adotada por produtores. Há necessidade de métodos eficientes de propagação de plantas vigorosas e sadias das cultivares recomendadas para cultivo visando à revitalização das plantas matrizes.

Com base nas considerações precedentes, este trabalho teve por objetivo descrever a germinação *in vitro* de sementes de quatro cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) visando o aproveitamento dessas plantas para a multiplicação *in vitro* e avaliação das progênies geradas dentro do programa de melhoramento genético.

Material e Métodos

Os frutos de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), provenientes do município de Baião/Pará, das cultivares Karimunda; Bragantina (frutos de quatro plantas); Guajarina; e Apra foram coletados e no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental – Belém/ Pará, as sementes foram introduzidas *in vitro* para produção de plântulas.

Para isso, inicialmente os frutos no estágio maduro de coloração amarelo e vermelho, foram coletados e submetidos à pré-asepsia a qual constou de: despoldamento das sementes, lavagem em água corrente com detergente líquido, imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,5% durante à noite por cerca de 12 horas em estufa a 40°C.

Na seqüência, as sementes de cada cultivar foram imersas em solução de derosal a 0,2% e sob câmara de fluxo laminar asséptica submetidas à solução de álcool a 70% (v/v) por um minuto e em

solução de NaClO a 1,5% (v/v) por 15 minutos, lavagens por cinco vezes em água destilada autoclavada, e imersão em solução de sulfato de streptomina 500 mg.L⁻¹ por cinco minutos. As sementes foram transferidas para placas de Petri esterilizadas, e em seguida inoculadas em frascos contendo meio de cultura básico MS (Murashige & Skoog, 1962), com 0,17 g.L⁻¹ de NH₂PO₄, 3% de sacarose, vitaminas, e 0,2 % de phytigel. A incubação foi realizada nas condições de 25 ± 3° C de temperatura, sob fotoperíodo de 16 h.luz.dia⁻¹, com intensidade de luz de cerca de 3.000 lux proporcionada por três lâmpadas fluorescentes brancas de 20 w.

Os dados tomados aos 30, 37, 50, 60, 67 e 80 dias de cultivo foram quanto as sementes intumescidas em nível do embrião (INE), emissão de radícula (ERD), emissão da raiz principal (ERP), emissão do hipocótilo (EHP), emissão de cotilédones (EC) e plântula formada (PF), respectivamente. Os dados foram analisados quanto à percentagem de respostas das sementes das diferentes cultivares de *Piper nigrum* L. em relação a cada variável citada anteriormente a partir do número de sementes inoculadas.

Resultados e Discussão

O primeiro passo no processo de germinação de sementes de pimenteira-do-reino é o intumescimento do embrião para em seguida desencadear todo o processo de diferenciação até a formação da plântula. De acordo com as variáveis analisadas e expressas na Tabela 1 e Figura 1, aos 30 dias após a inoculação das sementes foram observadas em todas as cultivares intumescimento em nível do embrião. Houve desenvolvimento inicial, destacando-se a cultivar Bragantina (planta III) com 79% seguida da cultivar Apra com 77% das sementes

intumescidas indicando o início do processo de germinação.

Uma semana após a primeira observação analisou-se a emissão de radícula, sendo observado que 58% das sementes da cultivar Apra apresentavam essa resposta e 47% das sementes da cultivar Bragantina (planta IV), evidenciando que há diferença na diferenciação dos estádios de germinação entre as cultivares e mesmo dentro da cultivar Bragantina. Entretanto, houve uma tendência de manter a mesma performance nos estádios subseqüentes de germinação para as cultivares que entraram primeiro no processo de germinação.

A emissão do hipocótilo foi observada aos 60 dias após inoculação. Nesta, as cultivares Apra e Bragantina (planta III) apresentaram a mesma porcentagem em relação ao parâmetro analisado, ou seja, trinta e sete por cento de resposta. Nesta fase, já se observava o início do surgimento de cotilédones em poucas plântulas, porém estes só foram analisados aos 67 dias mostrando que a

cultivar Bragantina (planta III) apresentou 36% de plântulas com cotilédones.

Durante as avaliações, observou-se que houve uma queda nos resultados de alguns itens analisados. Isto pode ser notado quando as cultivares que se mostraram com maior porcentagem de desenvolvimento durante a primeira avaliação, ou seja, nas cultivares Bragantina (planta III) e Apra, que aos 30 dias apresentaram 79 e 77% , respectivamente, de sementes intumescidas, aos 37 e 50 dias a cultivar Bragantina (planta III) não apresentou os melhores resultados, o mesmo ocorreu com Apra aos 67 dias. Dessa forma, pode-se dizer que o desenvolvimento nos estádios intermediários de formação de plântula não ocorreu de maneira gradativa para as cultivares analisadas. Porém, as duas cultivares que apresentaram mais sementes intumescidas aos 30 dias foram as que tiveram as maiores porcentagens aos 80 dias, 52% Apra e 51% Bragantina (planta III) de formação de plântulas.

Tabela 1. Porcentagem de respostas de sementes de plantas de quatro cultivares de pimenta-do-reino a diferentes estádios na germinação *in vitro* após 30 a 80 dias da semeadura, 2009.

CULTIVARES	INE	ERD	ERP	EHP	EC	PF
	30 dias	37 dias	50 dias	60 dias	67 dias	80 dias
Karimunda	60	43	30	32	25	33
Guajarina	46	39	31	25	25	24
Apra	77	58	48	37	31	52
Bragantina (planta I)	55	35	32	22	20	40
Bragantina (planta II)	64	45	33	35	35	38
Bragantina (planta III)	79	33	41	37	36	51
Bragantina (planta IV)	67	47	40	27	25	33

INE - sementes intumescidas em nível do embrião

ERD - emissão de radícula

ERP - emissão da raiz principal

EHP - emissão do hipocótilo

EC - emissão de cotilédones

PF - plântula formada

MOURA et al (2008), estudando concentrações de citocinina e carvão ativado na micropropagação de pimenta-

do-reino, somente após três meses da germinação *in vitro* das sementes de obteve plântulas doadores de ápices

caulinares, os quais foram retirados e inoculados em meio contendo sais e vitaminas de MS para regeneração. Isso nos mostra que o processo de germinação continua ocorrendo e plântulas podem ser desenvolvidas com mais de 90 dias após a sementeira, pois aos 80 dias, apenas duas cultivares

(Apra e Bragantina) desenvolveram plântulas acima de 50% das sementes inoculadas, as outras não chegaram a atingir 50% (Guajarina e Karimunda) indicando que as mesmas tem processo completo de germinação tardio, pois entraram em processo inicial de germinação.

Germinação *in vitro* de Sementes de Pimenta-do-Reino

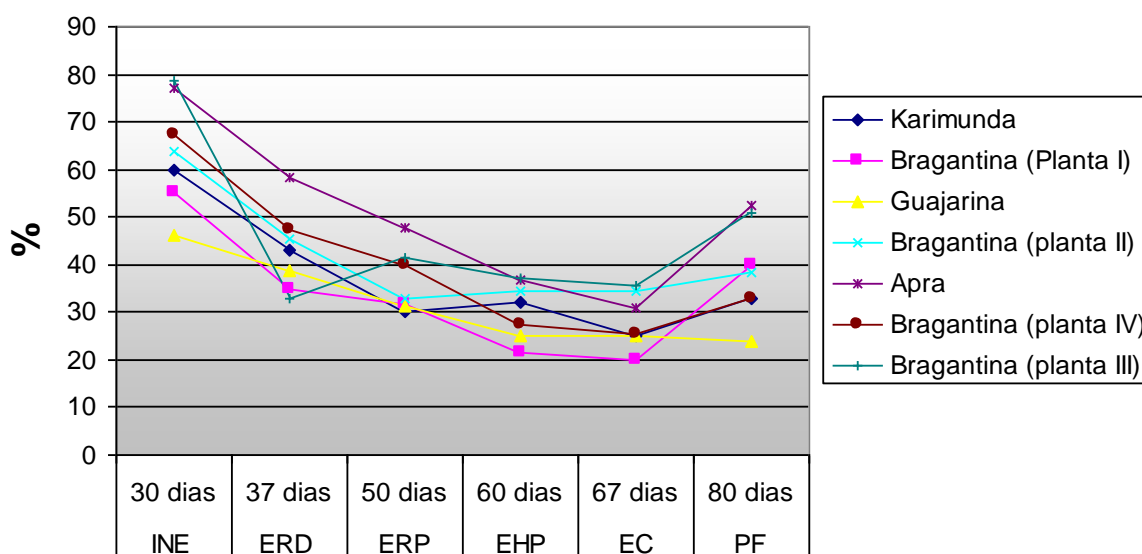


Figura 1. Formação de plântulas a partir de sementes de sete plantas de quatro cultivares provenientes de Baião - Pará avaliadas até 80 dias após a inoculação, 2009.

Considerando Nambiar et al. (1978), a propagação por sementes é adotada basicamente em programas de melhoramento. A viabilidade da semente é perdida rapidamente e a germinação ocorre desde os 15 aos 90 dias após sementeira dependendo de cultivares e condições de cultivo.

Dessa forma, é possível que algumas sementes tenham perdido sua viabilidade, justificando ainda a

percentagem alcançada aos 80 dias. Porém, mesmo após 90 dias após a sementeira, as sementes ainda podem apresentar respostas em relação à germinação, aumentando desta forma o número final de plântulas formadas.

A Figura 2 mostra as fases de germinação de sementes de pimenta-do-reino que foram analisadas durante o estudo.

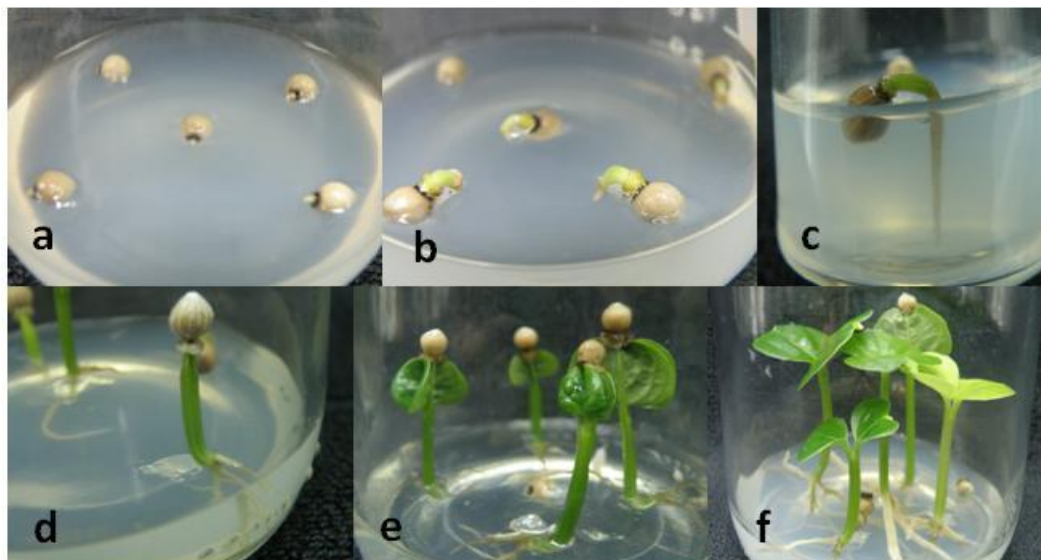


Figura 2. Etapas da germinação de pimenta-do-reino analisadas aos 30 dias (a), aos 37 dias (b), aos 50 dias (c), aos 60 dias (d), aos 67 dias (e), e aos 80 dias (f).

Conclusões

As cultivares mostram viabilidades variáveis no processo de germinação *in vitro*, mesmo entre cultivares e dentro de plantas da mesma cultivar. As cultivares Bragantina (planta III) e Apra formam plântulas acima de 50% após 80 dias.

As análises devem ser estendidas a fim de se obterem respostas sobre a real viabilidade de germinação das sementes.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica, ao Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental pela infra-estrutura e financiamento das pesquisas.

Referências

ESTATÍSTICA de embarque de pimenta-do-reino do Brasil. Belém: [s.n.], 2004. Não paginado. Dados fornecidos pela associação brasileira dos exportadores e produtores de pimenta-do-reino (ABEP).

DUARTE, M. de L.R.; ALBUQUERQUE, F.C. **Doenças da cultura da pimenta-**

do-reino. In: Duarte, M. de L.R. (Ed). Doenças de plantas no trópico úmido. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. p.159-208.

MOURA, E.F.; MENEZES, I.C.; LEMOS, O.F. **Concentrações de citocinina e carvão ativado na micropropagação de pimenta-do-reino.** In: Ciência Rural, Santa Maria, v.38, n.1, p.72-76, jan-fev, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture.** Physiologia Plantarum, v.15, p.473-497, 1962.

NAMBIAR, P.K.V.; PILLAY, V.S. SASIKUMARAN, S.; CHANDY, K.C. **Pepper research at panniyur: a resume.** Journal of Plantation Crops. v.6, n.1, p.4-11, 1978.