



OBTENÇÃO DE PLÂNTULAS *IN VITRO* DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.) A PARTIR DE SEMENTES DE CRUZAMENTO INTRAESPECÍFICO

Cinara Rafaela de Oliveira Neves¹, Oriel Filgueira de Lemos², Ana Carolina Melo Ribeiro³, Tinayra Teyller Alves Costa⁴, Gabriela Tavares Pires⁵

¹Estudante de Eng^o Agrônômica da UFRA/Estagiária da Embrapa Amazônia Oriental, cinara.d.ferreira@gmail.com

²Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, oriel.lemos@embrapa.br

³Estudante de Eng^o Agrônômica da UFRA/ Estagiária da Embrapa Amazônia Oriental, carolmribeiro95@gmail.com

⁴Estudante de Eng^o Agrônômica da UFRA/ Estagiária da Embrapa Amazônia Oriental, tinayra.teyller@yahoo.com.br

⁵Estudante de Eng^o Agrônômica da UFRA/ Estagiária da Embrapa Amazônia Oriental, gabrielatavaresp18@gmail.com

Resumo: Na tentativa de produzir plantas saudáveis livres de patógenos e dar apoio ao programa de melhoramento genético da pimenteira-do-reino, a propagação *in vitro*, a partir de sementes, apresenta-se como forma viável de propagação. O presente trabalho teve como objetivo produzir plantas a partir de um genótipo de cruzamento intraespecífico em condições de cultivo, *in vitro* em diferentes meios de cultivo. Foram utilizadas sementes do cruzamento intraespecífico de pimenta-do-reino (Bragantina x Clonada). As sementes foram divididas em três grupos de 16 sementes cada e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de diferentes combinações de meio básico de cultura, o primeiro meio (T1), foi composto de meio básico de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH₂PO₄ 0,17 mL⁻¹, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ de ambos reguladores de crescimento BAP (6- benzilaminopurina) e ANA (ácido a-naftalenoacético). O segundo meio (T2), foi composto de meio básico de cultura ½ (metade da concentração dos macros e micronutrientes) MS e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH₂PO₄ 0,17 mg.L⁻¹, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ tanto de BAP quanto de ANA. O terceiro (T3), foi composto de meio básico de cultura ½ (metade das concentrações dos macros e micronutrientes) MS e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH₂PO₄ 0,17 mg.L⁻¹. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8, e a autoclavagem foi a 120 °C e 1 atm por 20 minutos. O delineamento experimental foi inteiramente



casualizado com 3 tratamentos, 1 genótipo híbrido de pimenteira-do-reino e 3 substratos. As sementes mantidas em sala de crescimento sob condições controladas de temperatura (25 ± 3 °C), fotoperíodo de 16 horas, e luminosidade de 3.000 lux. Houve uma variação de formação de plântulas de 25 a 43,75% sem diferenças significativas entre os meios de cultura. Portanto, concluiu-se que é possível produzir plântulas do genótipo intraespecífico (Brag x Clon) em qualquer um dos meios de cultivo usados no ensaio.

Palavras-chave: semente, cruzamento, propagação *in vitro*.

Introdução

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira originária da Índia, pertencente à família da Piperacea, sendo a mais importante especiaria comercializada mundialmente. O Brasil é o 3º maior exportador mundial dessa commodity (Levantamento..., 2015). Atualmente, a região Norte é a maior produtora de pimenta-do-reino no Brasil. Ela foi responsável no ano de 2012 por 79,38% da produção nacional, destacando-se o Pará como maior produtor e exportador. Neste estado, as microrregiões produtoras mais importantes são Guamá, Tomé-Açu, Bragançinha e Cametá, representando 70,96% da quantidade total produzida (IBGE, 2014). Entretanto, a produção brasileira vem decrescendo devido a ocorrência de doenças que diminuem seu ciclo produtivo, variando de cinco a seis anos em ocorrência da doença (Lemos, 2003).

Na tentativa de produzir plantas saudáveis livres de patógenos, a propagação *in vitro*, a partir de sementes, apresenta-se como forma viável de produção, no entanto, diversos fatores podem afetar o potencial germinativo das sementes promovendo a formação de plântulas anormais, dentre eles, a presença de microrganismos, como fungos (Effegem et al., 2014). O sistema de propagação tem grande influência nas medidas de controle e prevenção de agentes patológicos, sendo importante a determinação de um protocolo de estabelecimento.

O trabalho teve como objetivo produzir plantas a partir de um genótipo de cultivar híbrida em condições de cultivo, *in vitro* em diferentes meios de cultivo visando dar suporte ao programa de melhoramento genético de pimenteira-do-reino.



Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Para a germinação, inicialmente foram coletados frutos maduros, de plantas cultivadas na área experimental da Embrapa Amazônia Oriental. As sementes do cruzamento intraespecífico de pimenta-do-reino (Bragantina x Clonada) foram submetidas à assepsia. Inicialmente foram imersas em solução de NaClO 0,5% e colocadas em estufa à 37 °C por 12 horas, após esse período, foram despulpadas e lavadas com detergente neutro. Sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar, as sementes foram colocadas em solução fungicidas (nativo a 0,4% e derosal a 0,2%) por 20 minutos, depois em álcool a 70% por mais 1 minuto, mais 15 minutos em solução de NaClO 1%, posteriormente foram lavadas em água destilada e autoclavadas por cinco vezes.

As sementes foram divididas em três grupos de 16 sementes cada e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de diferentes combinações de meio básico de cultura, o primeiro meio (T1), foi composto de meio básico de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH₂PO₄ 0,17 mgL⁻¹, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado com reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido a-naftalenoacético) a 0,5 mg.L⁻¹. O segundo meio (T2), foi composto de meio básico de cultura ½ (metade da concentração dos macro e micronutrientes) MS (Murashige; Skoog, 1962) e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH₂PO₄ 0,17 mgL⁻¹, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ de BAP e ANA. O terceiro (T3), foi composto de meio básico de cultura ½ (metade das concentrações dos macros e micronutrientes) MS (Murashige; Skoog, 1962) e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH₂PO₄ 0,17 mgL⁻¹ e phytigel a 0,2%. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8, e a autoclavagem foi a 120 °C e 1 atm por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos para o genótipo híbrido intraespecífico de pimenteira-do-reino do cruzamento Bragantina X Clonada. As sementes mantidas em sala de crescimento sob condições controladas de temperatura (25 ± 3 °C), fotoperíodo de 16 horas, e luminosidade de 3.000 lux. As avaliações foram quanto à formação ou não de formação de plântulas após o processo de germinação das sementes. Os dados

foram submetidos às análises estatísticas por meio do programa Past3.zip, para teste de comparação de Qui-quadrado para o efeito do meio de cultura sobre a formação de plântulas do genótipo a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A germinação das sementes ocorreu em maior porcentagem nos tratamentos T2 e T3 (Tabela 1). Segundo Santos (2009) o percentual de germinação pode ser influenciado pela viabilidade da semente que pode ser perdida de acordo com o tempo que leva para ser posta para germinar, dependendo de cultivares e condições de cultivo.

Tabela 1. Percentagem de germinação de sementes do híbrido intraespecífico de pimenteira-do-reino (Bragantina X Clonada).

TRATAMENTOS	NÃO PLANTAS	PLANTAS	TOTAL
T1	12 (75%)	4 (25%)	16 (100%)
T2	9 (56,25%)	7 (43,75%)	16 (100%)
T3	9 (56,25%)	7 (43,75%)	16 (100%)

É possível observar (Figura 1) que no tratamento T1 ocorreu uma menor produção de plântulas, enquanto nos tratamentos T2 e T3 a produção de não plântulas e plântulas foram semelhantes. Considerando todos os tratamentos, o teste qui-quadrado revelou não significância para a diferença de número de plântulas formadas em cada meio de cultivo, isto é, não houve interferência do meio de cultivo na produção de plântulas de acordo com os resultados apresentados. Esses resultados são semelhantes ao encontrado por Lemos (2003), que constatou que a adição ou não de carvão ativado nos diferentes meios de cultura não teve influência significativa na formação de plântulas.

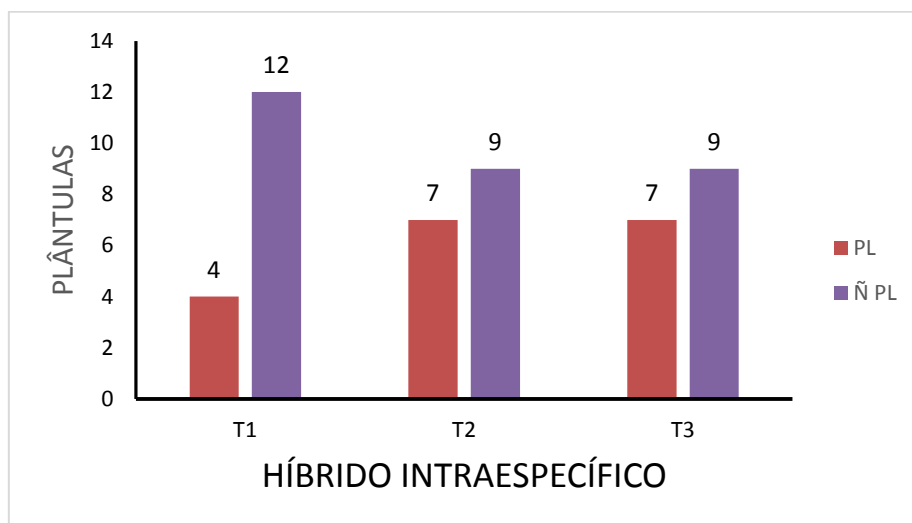


Figura 1. Porcentagem de plântulas formadas e plântulas não formadas em diferentes meios de cultura no processo de germinação *in vitro*.

Conclusão

Os resultados revelam que para a germinação *in vitro* e formação de plantas a partir de sementes do cruzamento intraespecífico (Bragantina X Clonada) é possível usando o meio MS com a adição dos compostos vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH_2PO_4 $0,17 \text{ mgL}^{-1}$, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado ou não com $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP e ANA.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Oriental pela oportunidade de realização da pesquisa e à Embrapa e Banco da Amazônia pelo financiamento das pesquisas.

Referências Bibliográficas

EFFEGEM, C.; GONTIJO, A. B. P. L.; CAMPANHARO, A.; GONTIJO, I. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 1221-1228, 2014.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática. **Produção agrícola municipal:** Pará. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2012/default.shtm>>. Acesso em: 6 abr. 2014.



LEMOS, O. F. **Mutagênese e tecnologia in vitro no melhoramento genético de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)**. 2003. 159 f. il. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro: IBGE, v. 26, n.1, 2015.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

SANTOS, L. R. R. dos; LEMOS, O. F. de; RODRIGUES, S. de M. Germinação in vitro de diferentes cultivares de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). In: SEMINÁRIO CIENTÍFICO DA UFRA, 7.; SEMINÁRIO [DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA] DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 13.; SEMINÁRIO DE PESQUISA DA UFRA, 1., 2009, Belém, PA. **Pesquisa e desenvolvimento tecnológico na formação do jovem cientista**: anais. Belém, PA: UFRA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 1 CD-ROM.