



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

Tinayra Teyller Alves Costa¹, Oriel Filgueira de Lemos², Cinara Rafaela de Oliveira
Neves³, Ana Carolina Melo Ribeiro⁴, Gabriela Tavares Pires⁵

¹Estudante de Eng^oAgronômica da UFRA/Estagiaria da Embrapa Amazônia Oriental,
tinayra.teyller@yahoo.com.br

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

³Estudante de Eng^oAgronômica da UFRA/Estagiaria da Embrapa Amazônia Oriental,
cínara.d.ferreira@gmail.com

⁴Estudante de Eng^oAgronômica da UFRA/Estagiaria da Embrapa Amazônia Oriental,
carolm.ribeiro95@gmail.com

⁵Estudante de Eng^oAgronômica da UFRA/Estagiaria da Embrapa Amazônia Oriental,
gabrielatavaresp18@gmail.com

Resumo: A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira que faz parte da família Piperácea, é uma espécie considerada perene e de origem indiana, necessita de regiões de clima tropical (quente e úmido) para ter um bom desenvolvimento, no período de floração e frutificação é necessário que tenha disponibilidade hídrica, além de se desenvolver muito bem em solos com boa fertilidade e drenagem adequada. A forma mais utilizada para propagar a cultura é de maneira vegetativa, no entanto esse método proporciona a multiplicação e transmissão de doenças entre as plantas, além de gerar uma baixa quantidade de estacas por ano. Desta forma, o trabalho foi realizado com objetivo de obter plântulas de uma cultivar *in vitro* em diferentes meios de cultura, visando dar suporte ao programa de melhoramento genético. Foram usadas sementes da cultivar Panakotta. As sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio básico de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) 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 os reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido a-naftalenoacético) e pH a 5,8. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos, 1 genótipo de pimenteira-do-reino com 50 repetições por tratamento. As sementes foram 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 a formação e a não



formação de plântulas finalizando o processo de germinação das sementes. O genótipo de Panakotta apresentou germinação e formação de plântulas de 40 a 50% e não houve efeito significativa dos meios de cultivo na propagação via sementes. Portanto, o meio de cultura MS e vitaminas de Write, sacarose a 3%, NaH_2PO_4 0,17 mg L^{-1} , Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado ou não com reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido a-naftalenoacético) e pH a 5,8 promovem a germinação e formação de plântula a partir de sementes da cultivar Panakota.

Palavras-chave: geminação, biotecnologia, meio de cultura.

Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira que faz parte da família Piperácea, é uma espécie considerada perene e de origem indiana, necessita de regiões de clima tropical (quente e úmido) para ter um bom desenvolvimento, no período de floração e frutificação é necessário que tenha disponibilidade hídrica, além de se desenvolver muito bem em solos com boa fertilidade e drenagem adequada (Andrade et al., 2017).

O estabelecimento da cultura no Brasil foi realizado através dos portugueses no século dezessete, de modo que os primeiros plantios ficaram instalados nas regiões que permeavam o litoral do país, a primeira cultivar inserida tinha características morfológicas semelhantes as cultivares Balankotta e kaluvally (Duarte, 2004).

Ainda segundo Embrapa 2004, a pimenteira-do-reino só teve consolidação no cultivo comercial no Brasil com a implantação da cultivar Cingapura, cuja as sementes foram instituídas por imigrantes ocidentais. No começo, o país ainda dependia da importação para seu consumo interno, porém, na década de 50 a região de Tomé-Açu teve um elevado crescimento na produção de pimenteiras, motivando outras localidades a invertermem na implantação da cultura (Duarte, 2004).

A forma mais utilizada para propagar a cultura é de maneira vegetativa, no entanto esse método proporciona a multiplicação e transmissão de doenças entre as plantas, além de gerar uma baixa quantidade de estacas por ano (Lemos et al., 1997).



A técnica de propagação *in vitro* é um grande avanço científico que estabelece condições favoráveis ao desenvolvimento de plântulas saudáveis, além de propiciar a clonagem de material elite, recuperação de cruzamentos induzidos e preservação de matérias com alta variabilidade para futuras aplicações (Lemos, 2003). Muitas pesquisas têm sido realizadas com o propósito de multiplicação de germoplasmas para posterior comercialização de material sadio (Lemos et al., 1997). Desta forma, o trabalho foi realizado com objetivo de obter plântulas de uma cultivar *in vitro* em diferentes meios de cultura, visando dar suporte ao programa de melhoramento genético.

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. Sementes da cultivar (Panakotta) de pimenteira-do-reino foram submetidas à assepsia. Inicialmente foram imersas em solução de NaClO 0,5% e colocadas em estufa a 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 autoclavada por cinco vezes.

As sementes foram divididas em três grupos de 50 sementes cada e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de diferentes combinações 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 mg L⁻¹, carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado com 0,5 mg,L⁻¹ BAP (6- benzilaminopurina) e 0,5 mg,L⁻¹ 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 BAP (6-benzilaminopurina) e 0,5 mg,L⁻¹ ANA (ácido a-naftalenoacético). O terceiro



(T3), foi composto de meio básico de cultura $\frac{1}{2}$ (metade das concentrações dos macros e micronutrientes) MS (Murashige; Skoog, 1962) e vitaminas de White, sacarose a 3%, NaH_2PO_4 , $0,17 \text{ mg L}^{-1}$, sem regulador de crescimento. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 e a autoclavagem foi a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ e 1 atm por 20 minutos.

Tabela 1. Tratamentos para a germinação e formação de plântulas a partir de sementes de Panakota.

| TRATAMENTO | DOSE* |
|--|------------------------------|
| MS + NaH_2PO_4 + BAP + ANA + C.A | 0,17 + 0,5 + 0,2 + 0,2 |
| $\frac{1}{2}$ MS + NaH_2PO_4 + BAP + ANA + C.A | 0,17 + 0,5 + 0,2 + 0,2 + 0,2 |
| $\frac{1}{2}$ MS + NaH_2PO_4 | 0,17 |

* NaH_2PO_4 : dose em g; BAP dose em mg,L^{-1} ; AIA dose em mg,L^{-1} ; C.A: dose em percentagem (% p/v).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos, um genótipo de pimenteira-do-reino com 50 repetições por tratamento. As sementes foram transferidas para tubo de ensaio, uma por tubo, contendo o meio de cultura, mantidas em sala de crescimento sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$), fotoperíodo de 16 horas, e luminosidade de 3.000 lux. As avaliações foram quanto a formação e a não formação de plântulas finalizando 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 propagação em pimenteira-do-reino via sementes é importante para o programa de melhoramento e obtenção de plantas saudias. Na germinação e formação de plântulas *in vitro* da cultivar Panakota os meios de cultura não promoveram diferenças no processo de germinação e formação de plântulas, ou seja, independente do meio utilizado os resultados foram semelhantes para o



genótipo no que se refere à formação de plântulas. No entanto, os fatores como maturação das sementes, viabilidade do embrião e até mesmo possível impermeabilidade da casca das sementes podem ter influenciado a germinação (Garcia et al., 2007).

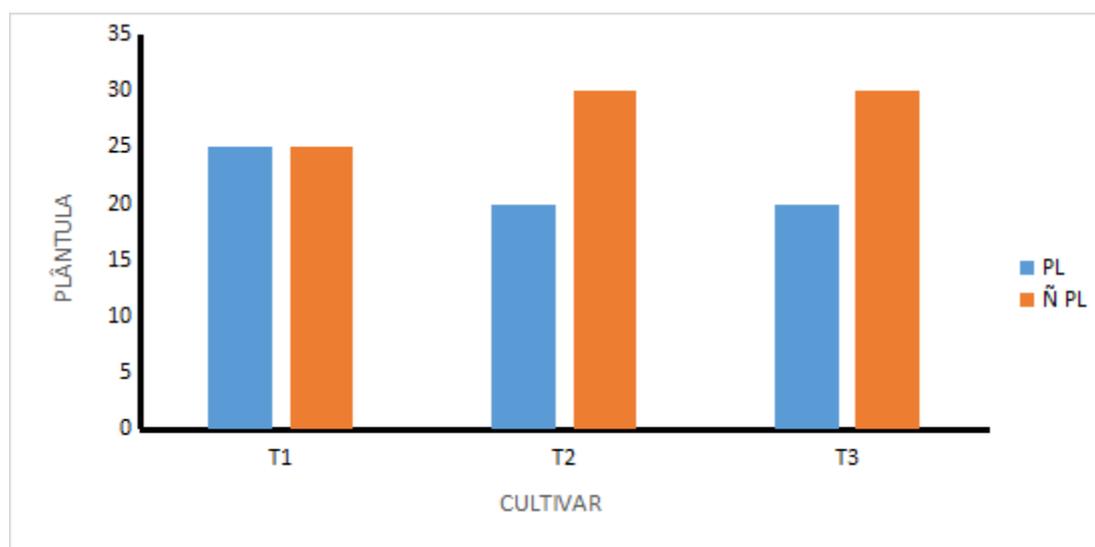


Figura 1. Porcentagem de plântulas formadas a partir de sementes da cultivar Panakota.

A germinação dessa cultivar *in vitro* apresenta uma variação entre 40% a 50%, ou seja, de cada duas sementes colocadas apenas uma formou plântula, podendo estar relacionada a viabilidade das sementes.

Tabela 2. Percentagem de germinação e formação de plântula no cultivo *in vitro* em três meios de cultura de sementes da cultivar Panakota.

| PANAKOTTA | Plântulas | Não Plântulas | Total |
|-----------|-----------|---------------|-----------|
| T1 | 25 (50%) | 25 (50%) | 50 (100%) |
| T2 | 20 (40%) | 30 (60%) | 50 (100%) |
| T3 | 20 (40%) | 30 (60%) | 50 (100%) |

Conclusão

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, concluiu-se que é possível a germinação *in vitro* e formação de plântula em meio de cultura MS e vitaminas de

Write, sacarose a 3%, NaH_2PO_4 0,17 mg L⁻¹, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2%, suplementado ou não com reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido a-naftalenoacético) e pH a 5,8.

Agradecimentos

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

Referências Bibliográficas

ANDRADE, C. G. C.; SILVA, M. L. da; SALLES, T. T. Fatores impactantes no valor bruto da produção de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) no Pará. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.

DUARTE, M. de L. R. **Cultivo da pimenteira-do-reino na Região Norte**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 185 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Sistemas de produção, 1).

GARCIA, J.; KAMADA, T.; JACOBSON, T.; CURADO, M.; OLIVEIRA, S. Superação de dormência em sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 30, n. 2, p. 51-54, dez. 2007.

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

LEMOS, O. F. de; MENEZES, I. C. de; SILVA, V. L. da. Propagação in vitro de plantas de pimenta-do-reino. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PIMENTA-DO-REINO E CUPUAÇU, 1996, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: EMBRAPA-CPATU: JICA, 1997. p. 407-415. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 89).

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