



# III CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS COINTER - PDVAGRO 2018

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

***IN VITRO* AND *EX VITRO* GERMINATION OF THREE BLACK PEPPER CULTIVARS (*Piper nigrum* L.)**

Apresentação: Pôster

Gabriela Tavares Pires<sup>1</sup>; Ana Carolina Melo Ribeiro<sup>2</sup>; Marcíllia Gabriella Tavares Monteiro<sup>3</sup>; Marli Costa Poltronieri<sup>4</sup>; Oriel Figueira de Lemos<sup>5</sup>

DOI: <https://doi.org/10.31692/2526-7701.IIICOINTERPDVAGRO.2018.00508>

## **Introdução**

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), originária da Índia, é uma espécie trepadeira, perene e semi-lenhosa, pertencente ao gênero *Piper* e a classe das dicotiledôneas, ordem Piperales e família Piperaceae. Atualmente, no Brasil a maior produtora de pimenta-do-reino é a região Norte. No ano de 2012 contribuiu com 79,38 % da produção nacional, e o estado do Pará ganhou destaque como maior produtor e exportador (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).

A vulnerabilidade genética das cultivares e a forma de propagação, principalmente vegetativa por estacas e a partir matrizes de má qualidade, tornam os cultivos muito uniformes e suscetíveis ao ataque de patógenos. São os principais causadores de perdas de produtividade dos pimentais doentes (LEMOS, 2003).

A técnica de propagação *in vitro*, a partir de sementes, tem como objetivo dar suporte ao programa de melhoramento genético e produzir plantas saudáveis livres de patógenos. É considerada uma forma viável, mas que precisa ultrapassar alguns fatores que afetam a germinação e a formação de plântulas normais, como a presença de microrganismos, por exemplo, fungos e bactérias. É um método de propagação que permite a produção de plantas

<sup>1</sup> Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, gabrielatavaresp18@gmail.com

<sup>2</sup> Graduanda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, carolm.ribeiro95@gmail.com

<sup>3</sup> Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, gabytavares15@hotmail.com

<sup>4</sup> Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Lab. de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal, marli.poltronieri@embrapa.br

<sup>5</sup> Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Lab. de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal, oriel.lemos@embrapa.br

doadoras de explantes para o processo de micropropagação confiável, asséptico e livre de patógenos, aumentando as chances dessas plantas conseguirem expressar todo potencial produtivo (EFFEGEM, 2014).

O trabalho teve como objetivo produzir plantas a partir de sementes de três cultivares em duas condições de cultivo, *in vitro* e *ex vitro*, visando dar suporte ao programa de melhoramento genético de pimenteira-do-reino.

## **Fundamentação Teórica**

A cultura da pimenta-do-reino foi introduzida no Pará pelos japoneses na década de 1930, levando o país ao patamar de maior produtor e exportador mundial em 1982. Configura-se como uma das atividades de maior importância ao agronegócio regional, assumindo papel de destaque na pauta de exportações e ocupação da mão-de-obra no meio rural (GISALDA, 2003). Atualmente, a produção brasileira está distribuída nas regiões norte, nordeste e sudeste, destacando-se os estados do Pará, Bahia e Espírito Santo (JUNIOR, 2017).

A pimenta-do-reino é uma cultura que se desenvolve bem em ambientes de clima quente e úmido, com precipitação média de 2.500 mm.ano<sup>-1</sup>, umidade relativa do ar em torno de 80%, temperatura entre 23 a 28 °C e solos com boa drenagem. Todavia, devido sua estreita base genética associado à temperatura e umidade favoráveis, a produção vem sendo limitada pela fusariose, doença causada pelo fungo *Nectria haematococca* f. sp. *Piperis*, que causa a podridão das raízes e secamento dos ramos (ALBUQUERQUE; DUARTE, 1977).

As polinizações controladas estão sendo adotadas para a geração de híbridos intra e interespecíficos e, paralelamente, estão sendo desenvolvidos estudos citogenéticos tanto de cultivares de *Piper nigrum* quanto de espécies nativas amazônicas, com o intuito de dar suporte às estratégias de melhoramento genético, visando aumentar a variabilidade genética e obter materiais mais tolerantes ou resistentes (LEMOS et al., 2011).

A obtenção de explantes livres de contaminantes é um fator limitante no processo de micropropagação, aspecto importante para a cultura da pimenteira-do-reino que apresenta microrganismos endógenos. Para tornar a micropropagação viável, vários processos para produzir plantas doadoras de acessos foram adotados, seja pela produção de estacas em casa de vegetação, a partir da germinação *in vitro* ou pela obtenção de embriões zigóticos (LEMOS, 2003). Visando dar suporte ao programa de melhoramento e propagar plantas saudáveis, este trabalho teve como objetivo avaliar a germinação *in vitro* e *ex vitro* de três genótipos de pimenteira-do-reino.

## **Metodologia**

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 de três cruzamentos intraespecíficos de pimenta-do-reino (Clonada x Iaçará, Panakotta x Iaçará e Bragantina x Iaçará) 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 inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio básico de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) e vitaminas de White, sacarose a 3%, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,17 mg L<sup>-1</sup>, Carvão ativado a 0,2% e phytigel a 0,2 %, suplementado com fito-hormônios BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido a-naftalenoacético). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8, e a autoclavagem foi a 120 °C e 1 atm por 20 minutos. Cerca de 10 % do total de sementes, também foram postas para germinar em substrato contendo vermiculita mais serragem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos, 3 genótipos híbridos de pimenteira-do-reino e 2 substratos, mas o número de repetições variou de acordo com o número de sementes disponíveis para cada genótipo. 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 ( $25 \pm 3^\circ \text{C}$ ), fotoperíodo de 16 h, e luminosidade de 3.000 lux.

As avaliações foram quanto ao número de sementes germinadas e não germinadas. Os dados e foram submetidos às análises estatísticas por meio do programa Past3.zip, para teste de comparação de médias de Tukey a 5% e foi obtido o percentual de germinação.

## **Resultados e Discussões**

A germinação das sementes foi ocorreu em maior taxa no meio de cultura onde as condições químicas e físicas foram controladas. Houve também o acréscimo de fito- hormônios BAP e ANA, com o objetivo de suprir possíveis deficiências endógenas de hormônios. O genótipo híbrido CLO x I teve menor taxa de germinação tanto no meio de cultura quanto na vermiculita, enquanto os genótipos PAN x I e BRA x I tiveram melhor desempenho nos dois substratos.

Quadro 1: Total de sementes germinadas e não germinadas.

| Cultivar | Meio de cultura |              |       | Vermiculita   |               |       | Total Geral   |               |       |
|----------|-----------------|--------------|-------|---------------|---------------|-------|---------------|---------------|-------|
|          | Germ            | Não germ     | Total | Germ          | Não germ      | Total | Germ          | Não germ      | Total |
| CLO x I  | 3<br>(23%)      | 10<br>(77%)  | 13    | 1<br>(10%)    | 9<br>(90%)    | 10    | 4<br>(17%)    | 19<br>(83%)   | 23    |
| PAN x I  | 12<br>(66,6%)   | 6<br>(33,4%) | 18    | 4<br>(80%)    | 4<br>(50%)    | 8     | 16<br>(61,5%) | 10<br>(38,5%) | 26    |
| BRA x I  | 15<br>(75%)     | 5<br>(25%)   | 20    | 6<br>(28,6%)  | 15<br>(71,4%) | 21    | 21<br>(51,2%) | 20<br>(48,8%) | 41    |
| Total    | 30<br>(58%)     | 21<br>(42%)  | 51    | 11<br>(28,2%) | 28<br>(71,8%) | 39    | 41<br>(45,5%) | 49<br>(54,5%) | 90    |

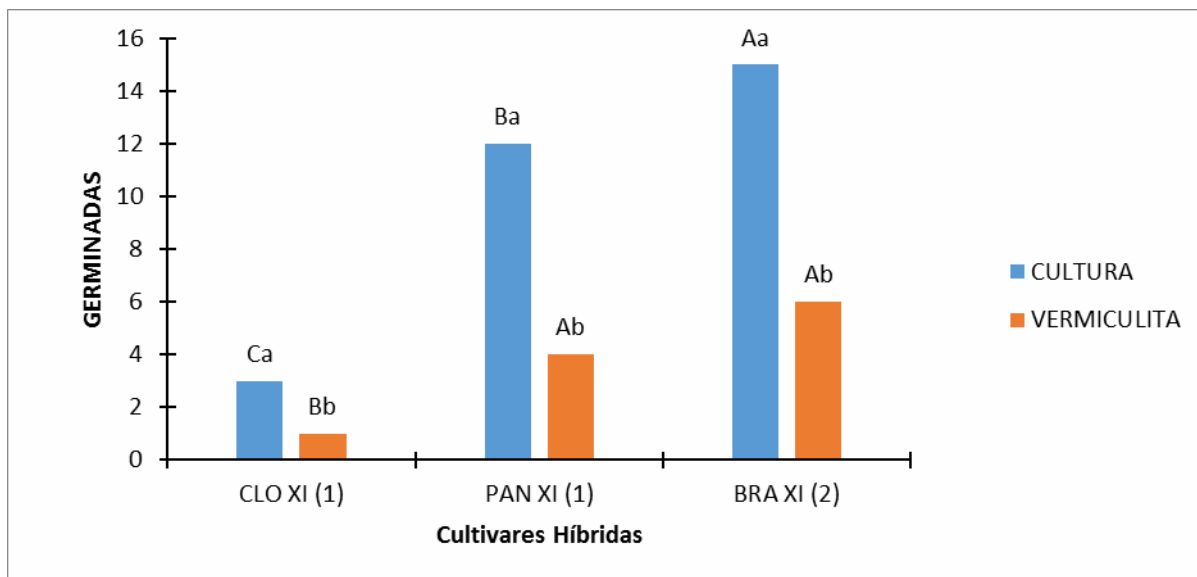
Fonte: Própria

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 (SANTOS et al, 2009). Dessa forma, é possível que algumas sementes tenham perdido a viabilidade e conseqüentemente com essa diferença de germinação entre os genótipos. Além disso, o maior percentual de germinação das cultivares *in vitro* pode ser pelo efeito dos reguladores de crescimento ANA e BAP.

Durante as avaliações observou-se que comparando entre cultivares, a diferença não foi significativa entre PAN x I e BRA x I no substrato vermiculita, entretanto, a cultivar CLO x I teve desempenho inferior no mesmo substrato. Em meio de cultura os genótipos apresentaram comportamentos diferentes, sendo que o híbrido BRA x I teve comportamento superior, apresentando maior percentual germinativo. Para Batista, 2015, a germinação é afetada pela qualidade fisiológica do material, que é influenciada pelas características genéticas herdadas de seus progenitores. Além disso, pode ser afetado por vários outros fatores endógenos e exógenos, entre eles a umidade adequada da semente e do substrato, temperatura, luz, oxigênio e composição do substrato (BATISTA, 2015). Em relação aos substratos, houve diferença entre ambos, onde o percentual de germinação foi superior no meio de cultura MS (Gráfico 1).

Recomenda-se mais testes com mais material de cada cruzamento para obter respostas sobre a germinação e conseqüentemente, obter plântulas para formação de mudas mais vigorosas e saudáveis.

Figura 1: Comparação de germinação substrato e cultivares.



Fonte: Própria

Letras maiúsculas comparam cultivares e minúsculas comparam substratos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### Conclusões

Há elevada taxa de germinação de sementes provenientes do cruzamento BRAGANTINA x IAÇARÁ tanto em meio de cultura MS quanto em vermiculita.

As condições *in vitro* associadas ao meio de cultura MS favorece a germinação de genótipos provenientes de cruzamentos de pimenta-do-reino.

### Referências

ALBUQUERQUE, F. C. de; DUARTE, M. de L. R. Pimenta-do-reino e suas doenças na região amazônica. *Correio Agrícola*, v. 213, 1977.

BATISTA, A. C. AMBIENTES, EMBALAGENS E ÉPOCAS DE ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Piper marginatum* E *Piper tuberculatum*. UFAM. Manaus/AM, 2015.

CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3. ed., Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

EFFEGEM, C. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; 2014. Disponível em: < <http://www.conhecer.org.br/>>. Acesso em: 03 out 2018. JUNIOR, J. F. C. C. et al. Análise do Mercado de pimenta do reino no período de 1990 a 2015. *Tecnol. & Ciênc. Agropec.*, João Pessoa, v.11, n.6, p,139-145, dez.2017. Disponível em: <<http://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-11-2017/v-11-n-6-dezembro-2017/19-artigo-ce-0817-05-analise-de-mercado-da-pimenta-do-reino.pdf>>. Acesso em: 08 out 2018.

GISALDA, C. F. et al. Fontes de Crescimento da produção de pimenta-do-reino no estado do Pará no período de 1979 a 2001, Belém/PA, 2003. Disponível em: < [http://www.sober.org.br/palestra/gp1\\_12\\_00.pdf](http://www.sober.org.br/palestra/gp1_12_00.pdf)>. Acesso em: 04 out 2018.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Produção agrícola municipal: Pará. Rio de Janeiro: IBGE; 2014 [citado em 2014 abr 6]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2012/default.shtm>

LEMOS, O. F. Mutagênese e tecnologia *in vitro* no melhoramento genético de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). ESALQ/USP. Piracicaba/SP, 2003.

LEMOS, O. F. et al. Conservação e Melhoramento Genético da Pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) em Associação com as Técnicas de Biotecnologia. Ed.1. Belém/Pa. Embrapa Amazônia Oriental, 2011. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/921237/1/DOC375.pdf>>. Acesso em: 08 out 2018.

SANTOS, L. R. R dos. et al. GERMINAÇÃO IN VITRO DE DIFERENTES CULTIVARES DE PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.). Anais do 7º seminário de iniciação científica UFRA e 13º seminário de iniciação científica EMBRAPA, 2009. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/55722906-Germinacao-in-vitro-de-diferentes-cultivares-de-pimenta-do-reino-piper-nigrum-l.html>>. Acesso em: 08 out 2018.

CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3. ed., Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.