

Avaliação da germinação de sementes e do desenvolvimento inicial de plantas de pimenta longa *in vitro*.

Rodrigo da Silva Guedes¹; Gottfried Cristian Barbary Schmitz²; Simone de Alencar Maciel³; Janiffe Peres de Oliveira³; Jonny Everson Scherwinski Pereira⁴

¹Eng. Agrônomo, Mestrando do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC;

²Embrapa Acre, Bolsista DTI do CNPq; ³UFAC, bolsistas PIBIC/CNPq/Embrapa Acre; ⁴Embrapa Acre, C. P. 321, 69.908-970 Rio Branco, AC. E-mail: jonny@cpafac.embrapa.br

RESUMO

O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a influência de meios de cultura e do carvão ativado na germinação *in vitro* de sementes de pimenta longa, em diferentes épocas de avaliação. Para isso, utilizaram-se os meios básicos de MS, WPM e Lepoivre acrescidos ou não de carvão ativado (2,5 g.L⁻¹). O delineamento foi inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento e 25 sementes por parcela. Aos 30 e 60 dias da semeadura foram avaliadas as seguintes variáveis respostas: taxa de germinação, altura e vigor das plântulas. Não foram observadas diferenças significativas entre os meios testados e as médias de germinação verificadas foram de 92.7%, 94.8% e 93.2% para os meios MS, WPM e Lepoivre, respectivamente. O acréscimo de carvão ativado melhorou significativamente a taxa de germinação das sementes (98,3%), independentemente do meio utilizado. Em meio de MS, aos 60 dias, as plantas alcançaram altura de 3,6 cm e, de modo geral, o carvão ativado também promoveu o crescimento das plantas. Para o vigor, diferenças significativas foram observadas somente aos 60 dias, onde plantas mais vigorosas foram obtidas em meios de cultura suplementado com carvão ativado.

Palavras-chave: *Piper hispidinervum* C. DC.; cultura de tecidos; carvão ativado.

ABSTRACT – Evaluation of seed germination and initial plant development of long pepper *in vitro*.

The work was carried out with the objective of evaluating the influence of the culture media and active charcoal on *in vitro* seed germination of long pepper, in different times of evaluation. For that, MS, WPM and Lepoivre media added or not with active charcoal (2,5 g.L⁻¹) were used. A completely randomized design was used with twenty replications with twenty five seed each one. After 30 and 60 days, germination rate, height and vigor of the plantlets were evaluated. It was not observed statistical differences among the media tested, being verified germination rates of 92.7%, 94.8% and 93.2% to MS, WPM and Lepoivre media, respectively. Adding active charcoal significantly improved the germination rate (98,3%), independently of the culture media. At 60 days in MS medium

the plants reached 3.6 cm height and, in general way, the active charcoal also improved the plant growth. For plant vigor, significant differences were observed just at 60 days where the most vigorous plants were obtained in media supplement with active charcoal.

Keywords: *Piper hispidinervum* C. DC.; tissue culture; active charcoal.

INTRODUÇÃO

A pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.), arbusto encontrado em regiões da Amazônia e possui expressiva importância econômica decorrente da presença de elevado teor de safrol em seu óleo essencial (Wadt & Kageyama, 2004). No entanto, resultados obtidos em laboratório indicam que *Piper hispidinervum* é uma espécie típica de ambientes abertos, apresentando sementes com baixa longevidade em condições naturais. Além disso, estudos sobre a produção e dispersão de sementes de *P. hispidinervum* revelaram uma baixa produção em indivíduos isolados ou espiguetas ensacadas, sugerindo a existência de certo grau de auto-incompatibilidade (Silva & Oliveira, 2000).

Nesse contexto e devido à falta de estudos básicos com pimenta longa, a aplicação de técnicas de cultura de tecidos pode ser uma ferramenta promissora à obtenção de propágulos de qualidade genética e fitossanitária. De acordo com Santiago (2003), a germinação de sementes *in vitro* favorece a obtenção de plântulas isentas de microrganismos, assim como o fornecimento de explantes jovens para serem usados em trabalhos de calogênese e cultivo em biorreatores.

Objetivou-se com este trabalho verificar a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas de *Piper hispidinervum* C. DC. sob condições *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Acre, Rio Branco, AC. Sementes de *Piper hispidinervum* foram submetidas à assepsia por 1 minuto em álcool (70%), 20 minutos em hipoclorito de sódio (50% da concentração comercial) e submetidas a tríplice lavagem em água destilada e autoclavada. Em seguida, foram transferidas para frascos com capacidade para 250 ml, contendo 30 mL dos seguintes meios de cultura: MS (Murashige e Skoog, 1962), WPM (Wood Plant Medium) (Lloyd & McCown, 1981) e Lepoivre (Quoirin et al., 1977) combinados ou não com carvão ativado ($2,5 \text{ g.L}^{-1}$), todos solidificados com 6 g.L^{-1} de ágar. O pH do meio foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$ e autoclavado a 121°C por 15 minutos em 1,3 atm de pressão.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 repetições por tratamento e 25 explantes por parcela. As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas e radiação luminosa de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Aos 30 e 60 dias foram avaliados as seguintes variáveis resposta: vigor, altura e germinação das plântulas. Os dados obtidos foram analisados com o programa estatístico SANEST e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Dados expressos em percentagem (x) foram transformados segundo arco seno $(x/100)^{0,5}$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável percentagem de germinação não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos empregados, tendo sido verificada germinação médias de 92,7, 94,8 e 93,2% para os meios MS, WPM e Lepoivre (Figura 1-Gráfico 1). Provavelmente, este resultado foi devido à existência de reservas nas sementes suficientes para a emergência, não se utilizando dos nutrientes do meio de cultura nesta etapa inicial. Diferenças significativas foram verificadas apenas para época de avaliação, em que um melhor índice de germinação foi obtido aos 60 dias da semeadura *in vitro* (Figura 1-Gráfico 2). No entanto, observou-se a adição de carvão ao meio de cultivo promoveu um aumento significativo na germinação das sementes (98,3%), independente do tipo de meio utilizado (Figura 1-Gráfico 3). Lemos (2003) trabalhando com *Piper nigrum* L. verificou que o cultivo *in vitro* de sementes em meio MS pleno, acrescido de carvão ativado (0,2%) e $0,17 \text{ g.L}^{-1}$ de NaH_2PO_4 , foi mais favorável ao desenvolvimento de plântulas normais (71,43%).

Em relação à altura média de plântulas, os melhores resultados foram verificados aos 60 dias da semeadura (3,2cm), independentemente do meio de cultura usado. Contudo, foi observado que o meio MS promoveu a maior altura de plântulas (3,6 cm) (Tabela 1). Entre os meios existentes, o MS é o mais popular e usual, justamente devido à maioria das espécies se desenvolvem favoravelmente (Santiago, 2003). De modo geral, um melhor crescimento de células e tecidos é obtido em meio de MS, atribuído em grande parte, à alta concentração de amônia e nitrato em sua constituição.

Observou-se que o acréscimo de carvão proporcionou maior vigor das plantas, independentemente do meio de cultura utilizado (Tabela 2).

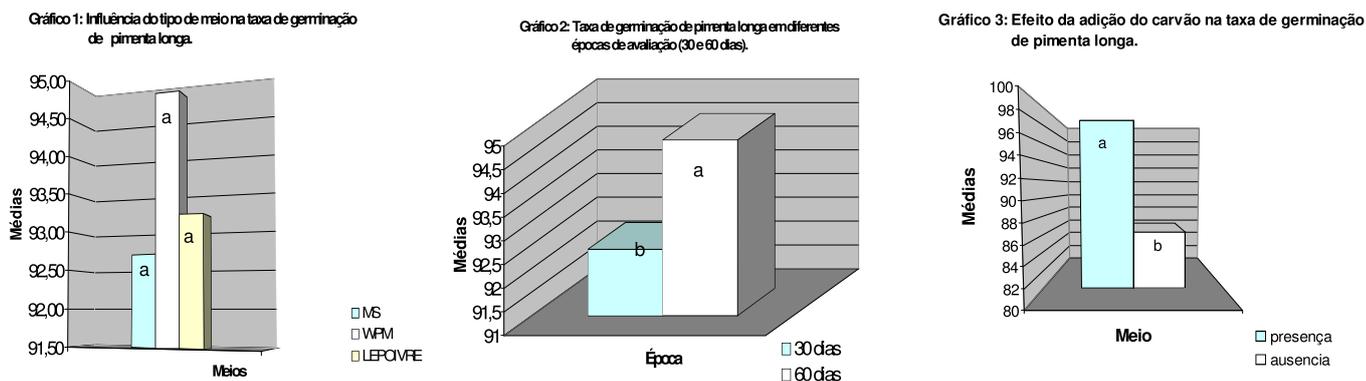


Figura 1. Influência do meio de cultura (MS, WPM e Lepoivre), época de avaliação e presença de carvão ativado sobre a germinação *in vitro* de sementes de pimenta longa.

Tabela 1. Influência do meio de cultura (MS, WPM e Lepoivre), época de avaliação e presença de carvão ativado sobre a altura de plantas de pimenta longa germinadas *in vitro*.

Meio	Época (dias)		Carvão		Média (meio)
	30	60	Com	Sem	
MS	1,0bB	3,6aA	2,4aA	2,1aA	2,3a
WPM	1,3aB	3,0bA	2,3aA	2,0aA	2,2ab
Lepoivre	1,2abB	2,9bA	2,3aA	1,8aA	2,0b
Média (época)	1,2B	3,2A	2,3A	2,0B	

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Influência do meio de cultura (MS, WPM e Lepoivre), época de avaliação e presença de carvão ativado sobre o vigor de plantas de pimenta longa germinadas *in vitro*.

Meio	Época (dias)		Carvão	
	30	60	Com	Sem
MS	2,1aA	2,0abA	1,5aB	2,6aA
WPM	1,6bB	2,2aA	1,4aB	2,4aA
Lepoivre	1,8bA	1,9bA	1,0bB	2,6aA

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

LITERATURA CITADA

- LEMOS, O. F. de. *Mutagênese e tecnologia in vitro no melhoramento genético da Pimenta-do-reino*. 2003. 159 p. Tese, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmialatifolia*, by use of shoot-tip culture. *Int. Plant Prop. Soc. Proceedings*, n. 30, p. 421-427, 1980.
- SANTIAGO, E.J.A. de. *Caracterização morfológica e bioquímica de calos de pimenta longa (Piper hispidinervium Candolle, De Candolle)*. 2003. 162p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SILVA, A.C.P.R. da; OLIVEIRA, M.N. de. *Produção e dispersão de sementes de pimenta-longa (Piper hispidinervium)*. Rio Branco: Embrapa-CPAF Acre, 2000. 14p. (Boletim de Pesquisa, 24).
- WADT, L. H. de O. & KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética e sistema de acasalamento de *Piper hispidinervium*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.2, p. 151-157, 2004.