

PRODUÇÃO DE PLANTAS *IN VITRO* PARA ADAPTAÇÃO DE PROTOCOLOS DE MICROPROPAGAÇÃO PARA DIFERENTES CULTIVARES DE PIMENTEIRA-DO-REINO

OLIVEIRA, Hérica Santos de¹; LEMOS, Oriel Filgueira de²; SOUZA, Cláudia Regina Batista de³; MENEZES, Ilmarina Campos de⁴;

INTRODUÇÃO

A pimenta-do-reino é um dos principais produtos agrícolas de exportação do Estado do Pará com cerca 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 (IBGE, 2002). Isto deve-se basicamente à ocorrência 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. O Pará produz cerca de 94% da produção de pimenta-do-reino (PRODUÇÃO, 2004) que atingiu no ano de 2000 uma produção nacional de 45.500 t. Todavia, grandes dificuldades têm sido encontradas pelos produtores para a aquisição de mudas certificadas a partir de viveiristas idôneos, pois a oferta não atende a demanda, o que tem levado os agricultores a utilizarem mudas de má qualidade, com conseqüências preocupantes na formação de pimentas fadados a ter cada vez mais o ciclo econômico produtivo reduzido, não alcançando a média de seis anos. Há necessidade de métodos eficientes de propagação de plantas vigorosas e sadias das principais cultivares recomendadas (Bragantina, Guajarina, Kuttiravally, Apra, Iaçará, Kotannadan e Cingapura) para cultivo visando a revitalização das plantas matrizes. Há plantas de Piperaceas nativas consideradas fontes potenciais de genes para resistência ao *Fusarium solani* f sp *piperis* (Poltronieri et. al., 1997). Para o aproveitamento dessas plantas, um dos primeiros passos é definir um método adequado de propagação, que permita, dentre outros, o estudo, a partir da infecção das plantas pelo fungo, da expressão dos mecanismos envolvidos no processo de interação planta-patógeno visando a detecção e identificação de genes de resistência. O projeto tem como objetivos aprimorar e desenvolver o processo de micropropagação de cultivares de *Piper nigrum* L. e de Piperaceas nativas (*Piper aduncum* L., *P. tuberculatum* Jacq., *P. hispidinervium* C. DC. e *P. colubrinum* Link.) e identificar genes envolvidos no mecanismo de defesa dessas plantas para resistência e/ou tolerância à doença fusariose. Neste caso, avaliou-se o desenvolvimento de plântulas *in vitro* em dois tipos de substratos.

¹Bolsista do PIBIC/ CNPq / Embrapa Amazônia Oriental. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

² Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas (Orientador) – Embrapa Amazônia Oriental

³Dra. em Biologia Molecular – Universidade Federal do Pará - UFPA.

⁴ MSc. em Biologia ambiental - Embrapa Amazônia Oriental.

II Seminário de Iniciação Científica da UFPA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004.

MATERIAL E MÉTODOS

Para obtenção de plântulas *in vitro*, frutos no estágio maduro de coloração amarelo avermelhado foram coletadas de plantas da coleção da Embrapa Amazônia Oriental (Belém-PA) das cultivares Cingapura, Kuthiravali, Kottanadan e Apra, e submetidas à assepsia conforme Lemos (2003). Os frutos foram despolpados e lavados utilizando detergente neutro e solução de hipoclorito de sódio a 2,5%. Posteriormente, foi feita uma pré-assepsia com os frutos imersos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e colocados em estufa a 40° durante à noite. As sementes foram lavadas em água corrente e, sob câmara de fluxo laminar asséptica, submetidas ao processo de desinfestação por imersão em álcool etílico a 70% (v/v) por um minuto e solução de hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por 15 minutos, sendo lavadas em seguida por três vezes com água destilada autoclavada. O suplemento de macro e micronutrientes foi feito utilizando-se o meio de cultura básico de MS num total de 2 tratamentos:

1 – MS + carvão ativado 0,2% e ágar a 0,7%

2 – Vermiculita + MS

Cada tratamento foi constituído de 10 frascos com 10 sementes por frasco e cultivado sob fotoperíodo de 16 h luz.dia⁻¹, com intensidade de luz de 25µmol. s⁻¹.cm⁻² e temperatura de 25 ± 3° C. Os dados tomados após 38 e 45 dias após inoculação foram quanto à emissão de radícula, emissão de primórdios foliares, tamanho de hipocótilo e tipo de plântula. A partir dos dados coletados foram calculadas as médias e percentagens referentes a germinação e crescimento das plântulas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na Tabela 1 podemos observar que a cultivar Cingapura apresentou um maior índice de germinação (56% de germinação) no substrato vermiculita-MS. A percentagem de germinação apresentada pelas sementes cultivadas em meio de cultura MS-carvão ativado, foi de 14%. As demais cultivares testadas, apresentaram um baixa taxa de germinação, porém observou-se que no substrato vermiculita-MS houve um maior índice de germinação na maioria das cultivares avaliadas.

Tabela 1: Número de sementes germinadas com 45 dias após inoculação nos diferentes substratos

Cultivar	MS-carvão ativado		Vermiculita-MS	
	Sementes germinadas	Total	Sementes germinadas	Total
Cingapura ¹	14	100	56	100
Kuthiravali ¹	5	100	4	40
Kottanadan ²	1	100	0	70
Apra ²	0	100	6	20

¹Bolsista do PIBIC/ CNPq / Embrapa Amazônia Oriental. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

² Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas (Orientador) – Embrapa Amazônia Oriental

³Dra. em Biologia Molecular – Universidade Federal do Pará - UFPA.

⁴ MSc. em Biologia ambiental - Embrapa Amazônia Oriental.

II Seminário de Iniciação Científica da UFPA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004.

¹ Após 45 dias da inoculação; ² Após 38 dias da inoculação

Foram avaliados dados de emissão de radículas, primórdios foliares, tamanho de hipocótilo e tipo de plântula. A percentagem de germinação e crescimento das plântulas são demonstrados após 38 e 45 dias de inoculação das sementes nos dois substratos testados (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados de germinação e crescimento das Cultivares Cingapura, Kuthiravally, Kottanadan e Apra, após 38 e 45 dias da inoculação nos diferentes substratos

Cultivares	Emissão de Radícula (%)		Primórdios Foliares (%)		Tamanho de hipocótilo (cm)		Plântulas normais (%)	
	Vermiculita	Carvão ativado	Vermiculita	Carvão ativado	Vermiculita	Carvão ativado	Vermiculita	Carvão ativado
Cingapura ¹	56%	14%	69%	6,7%	2,05	0,4	77,3%	33,3%
Kuthiravally ¹	10%	5%	30%	3,3%	1,7	0,36	75%	3,3%
Kottanadan ²	0	1%	0	10%	0	0,5	0	100%
Apra ²	30%	0	25%	0	1,0	0	100%	0

¹ Após 45 dias da inoculação; ² Após 38 dias da inoculação

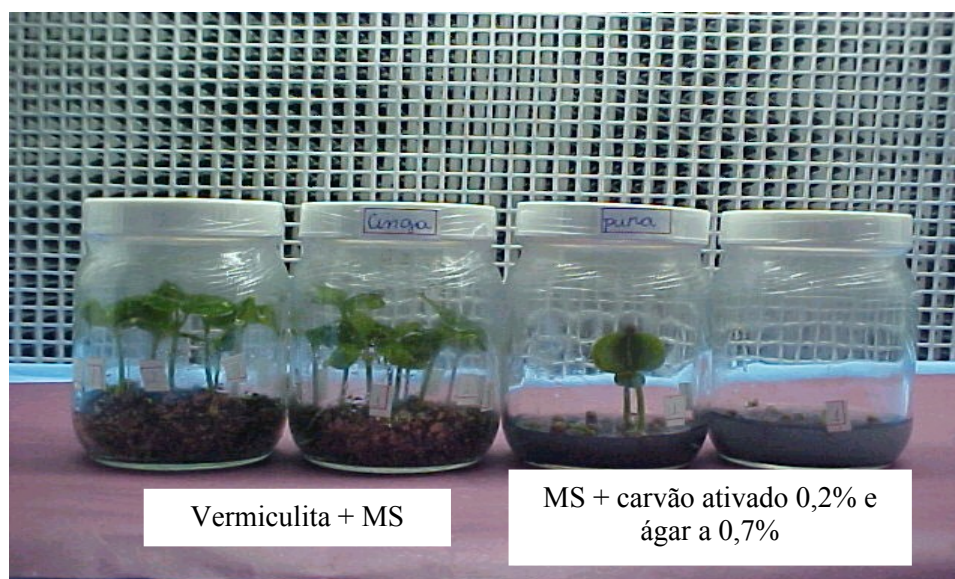


Figura 1-Germinação de sementes da cultivar Cingapura nos substratos utilizados

CONCLUSÃO:

- O substrato vermiculita suplementado com meio MS é eficiente para germinação *in vitro* de sementes maduras das cultivares Cingapura, Kuthiravally, Kottanadan e Apra

¹Bolsista do PIBIC/ CNPq / Embrapa Amazônia Oriental. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

² Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas (Orientador) – Embrapa Amazônia Oriental

³Dra. em Biologia Molecular – Universidade Federal do Pará - UFPA.

⁴ MSc. em Biologia ambiental - Embrapa Amazônia Oriental.

II Seminário de Iniciação Científica da UFPA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004.

- As cultivares Cingapura, Kuthiravally, Kottanadan e Apra apresentam melhor desenvolvimento de radícula, primórdios foliares, crescimento de hipócotilo e formação de plântulas normais em vermiculita com meio MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

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.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Agricultura – produção, área, rendimento, importações, e exportações – Brasil – 1991 a 2000: lavouras permanentes / pimenta-do-reino**. <http://www.Ibge.gov.br>. (21 out. 2002).

POLTRONIERI, M.C.; LEMOS, O.F. de; ALBUQUERQUE, F.C. Pimenta-do-reino. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Programa de melhoramento genético e adaptação de espécies vegetais para a Amazônia oriental**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1999. P.127-137. (Documentos, 16)

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

LEMOS, O. F. de **mutagênese *in vitro* no melhoramento genético da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)**. Tese de doutorado. Piracicaba - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 191p. 2003.

¹Bolsista do PIBIC/ CNPq / Embrapa Amazônia Oriental. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

² Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas (Orientador) – Embrapa Amazônia Oriental

³Dra. em Biologia Molecular – Universidade Federal do Pará - UFPA.

⁴ MSc. em Biologia ambiental - Embrapa Amazônia Oriental.

II Seminário de Iniciação Científica da UFPA e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental/2004.