



## EFEITO DE GA<sub>3</sub> NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SETE CULTIVARES DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.)

Fabricia Kelly Cabral Moraes<sup>1</sup>, Oriel Filgueira de Lemos<sup>2</sup>, Hugo Alves Pinheiro<sup>3</sup>, Lana Roberta Reis dos Santos<sup>4</sup>, Marli Costa Poltronieri<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Discente Doutorado em Agronomia Universidade Federal Rural da Amazônia. fabricia.moraes@ufra.edu.br

<sup>2</sup> Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Biotecnologia. oriel@cpatu.embrapa.br

<sup>3</sup> Prof. Dr. Instituto Sócio Ambiental e dos Recursos Hídricos, Universidade Federal Rural da Amazônia. hugo.pinheiro@ufra.edu.br.

<sup>4</sup> Discente Mestrado em Agronomia Universidade Federal Rural da Amazônia. lana.roberta@hotmail.com.

<sup>5</sup> Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Biotecnologia. marli@cpatu.embrapa.br

**Resumo:** A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) propaga-se de forma sexuada e assexuada. Suas sementes perdem a viabilidade rapidamente, devido à recalcitrância. A germinação ocorre entre os 15 e 90 dias após o semeio, podendo variar conforme a cultivar e as condições ambientais. A propagação por meio de sementes é o método usado para dar suporte ao melhoramento genético, e a busca pela eficiência e rapidez torna-se necessária. Objetivou-se, neste trabalho, favorecer a germinação de sementes *in vitro* pelo uso de ácido giberélico visando maximizar a taxa de germinação e a obtenção de plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequadas como fonte de explantes para a micropropagação e avaliação das progênies geradas. Neste estudo foram avaliados os efeitos do ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) nos estádios de germinação *in vitro* de sementes de sete cultivares de pimenteira-do-reino. Frutos maduros coletados passaram pelo processo de assepsia e as sementes transferidas para meio básico de cultura MS com metade das concentrações de sais e GA<sub>3</sub> (0, 50, 100 e 200 mg L<sup>-1</sup>) e mantidas em condições de 25 ± 3° C de temperatura, fotoperíodo de 16 h.luz.dia<sup>-1</sup>, e intensidade de cerca de 3.000 lux. Foram avaliados desde a emissão da radícula à formação das plântulas. Os tratamentos T1(MS/2 sem GA<sub>3</sub>) e T2(50 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>) apresentaram as maiores porcentagem dos estádios de germinação *in vitro* de sementes de pimenteira-do-reino.

**Palavras-chave:** estádios de germinação, giberelina, pimenteira-do-reino,

### Introdução

A propagação da pimenteira-do-reino é realizada tanto por sementes quanto através de estacas vegetativas. A propagação via sexuada, é adotada basicamente em programas de melhoramento, enquanto que por via assexuada é utilizada tradicionalmente para a produção de mudas para plantios comerciais. A viabilidade da semente é perdida rapidamente após 40-50 dias de armazenamento e a germinação ocorre desde os 15 aos 90 dias após semeadura, dependendo da cultivar e condições ambientais (NAMBIAR et al., 1978). O uso de reguladores de crescimento no meio de cultura é também importante na regulação da germinação *in vitro*. Sabe-se, hoje, que as giberelinas têm um papel-chave nesse processo, estando envolvidas tanto na quebra da dormência como no controle da hidrólise de reservas, da qual depende o



embrião em crescimento. Enquanto para diversas espécies, as giberelinas aceleram a germinação e a emergência, para outras elas apresentam pequena resposta ou nenhum efeito (SOARES et al., 2009).

Desta forma, estudos que visem favorecer a germinação *in vitro* de cultivares de pimenteira-do-reino são importantes para maximizar a taxa de germinação e a obtenção de plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada que sirvam como fonte de explantes a serem micropropagados e as progênes geradas avaliadas quanto à variabilidade genética das cultivares utilizadas pelos produtores.

### **Material e Métodos**

Frutos de pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), provenientes das cultivares Bragantina, Guajarina, Kottanadan, Kuthiravally, Alencar, Balankota e Cingapura, em estágio maduro, coloração amarela a vermelha, foram coletados no município de Tomé-açu e levados ao Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental, Belém- Pará. Inicialmente, os frutos foram despolidos e as sementes submetidas à pré-asepsia por meio de lavagem em água corrente com detergente líquido, imersão em solução de derosal a 0,2% por 15 minutos e lavagens com água destilada e imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,5% por cerca de 12 horas em estufa a 40°C. Em câmara de fluxo laminar, a assepsia se deu pela imersão em solução de álcool a 70% por 5 minutos e em NaClO a 1,5% por 15 minutos, sendo posteriormente, as sementes lavadas por cinco vezes em água destilada autoclavada. O semeio foi feito em meio de cultura básico MS/2 (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 3% de sacarose, vitaminas MS, 0,17 g.L<sup>-1</sup> fosfato de sódio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e solidificado com 0,2 % de phytagel e adição de GA<sub>3</sub> (T2=50, T3=100 e T4=200 mg L<sup>-1</sup>) e o tratamento testemunha (T1= sem GA<sub>3</sub>). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições para cada tratamento. Cada repetição constou de três sementes. O cultivo foi nas condições de 25 ± 3° C de temperatura, fotoperíodo de 16 h.luz.dia<sup>-1</sup> e intensidade de luz de cerca de 3.000 lux. Os dados tomados semanalmente, a partir dos primeiros sinais de germinação, foram submetidos à análise percentual dos seguintes estádios de desenvolvimento: intumescimento ao nível do embrião (INE); emissão de radícula (ERD); emissão de raiz principal (ERP), ou seja, alongamento da radícula (ERP); emissão do caulículo (ECL), emissão de hipocótilo (EHP); emissão de cotilédones (ECT); emissão de epicótilo (EEP) e plântula formada (PF).

### **Resultados e Discussão**

A maior porcentagem de sementes intumescidas em nível de embrião foi observada no tratamento que não houve suplementação com GA<sub>3</sub> (T1), aos 30 e 40 dias de cultivo, respectivamente. Para os



tratamentos suplementados T2, T3 e T4 maiores valores foram observados aos 30 e 40 dias de cultivo, porém quando comparados com o tratamento testemunha os valores foram menores. Resultados semelhantes foram obtidos quando as sementes apresentavam o estágio de emissão de radícula, porém as maiores porcentagens foram observadas aos 40 e 50 dias de cultivo. Para a análise de alongamento radicular maiores valores foram obtidos aos 40 e 60 dias de cultivo.

Houve um predomínio na emissão de caulículo aos 60 dias de cultivo, para todos os tratamentos, porém os maiores valores de porcentagem foram registrados no T1, seguido do tratamento T2, comportamento este observado para todas as cultivares. Ao Avaliar as emissões de hipocótilo e cotilédones observou-se uma predominância aos 70 dias de cultivo para todos os tratamentos, maiores valores nos tratamentos T1 e T2 para os setes cultivares. A emissão de epicótilo ocorreu com maior predominância aos 80 dias do cultivo para todas as cultivares em questão, porém, os tratamentos T1 e T2 foram os que apresentaram maiores valores percentuais.

O percentual de plântulas formadas aos 90 dias de cultivo foi substancialmente maior nos tratamentos T1 e T2 para as cultivares de pimenteira-do-reino. No entanto, para os tratamentos T3 e T4 com maior concentração de GA<sub>3</sub>, o número de plântulas formadas foi menor, com exceção da cultivar Kottanadan, devido principalmente à perda por oxidação nos vários estádios de germinação e por contaminação das sementes utilizadas neste experimento.

Para muitas espécies vegetais, as giberelinas aceleram a germinação e a emergência, no entanto, para outras espécies apresentam pequenas resposta ou nenhum efeito. Estudos com ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) em sementes de *Coffea arabica* L. *in vitro* mostraram que este regulador não contribuiu para acelerar a germinação e o desenvolvimento final das mudas. Em *Annona glabra* L houve redução na taxa de germinação de sementes quando se utilizou 2,0 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> no meio de cultura e, principalmente, quando esse foi associado à elevadas concentrações de sacarose (SOARES et al., 2009).

Não se verificaram efeitos significativos da aplicação do ácido giberélico sobre as características avaliadas, principalmente quando a concentração deste regulador foi aumentada; onde os melhores resultados foram observados no tratamento testemunha (sem GA<sub>3</sub>) e no tratamento T2 (50 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>). Isto talvez se deva ao fato das sementes apresentarem nível adequado de giberelina endógena, não interferindo no desempenho durante a germinação, principalmente nas sementes sem suplementação de regulador. Resultados semelhantes foram constatados por Leonel et al.(1994) em *Citrus* com emprego de concentrações de ácido giberélico que variaram de 0 a 250 mg L<sup>-1</sup>.



Tabela 1. Porcentagem de alguns estádios de germinação *in vitro* de sementes de sete cultivares de pimenteira-do-reino, submetidas à suplementação com GA<sub>3</sub>.

| Cultivares | % ERD (40 dias) |      |      |      | %EC (70 dias) |      |      |      | %PF (90 dias) |      |     |     |
|------------|-----------------|------|------|------|---------------|------|------|------|---------------|------|-----|-----|
|            | T1              | T2   | T3   | T4   | T1            | T2   | T3   | T4   | T1            | T2   | T3  | T4  |
| Cingapura  | 36,7            | 10,0 | 10,0 | 30,0 | 23,3          | 13,3 | 10,0 | 6,7  | 13,3          | 10,0 | 3,3 | 3,3 |
| Bragantina | 53,3            | 13,3 | 20,0 | 3,3  | 10,0          | 10,0 | 3,3  | 13,3 | 6,7           | 0,0  | 0,0 | 0,0 |
| Balankotta | 16,0            | 14,0 | 8,0  | 6,0  | 16,7          | 23,3 | 10,0 | 10,0 | 23,3          | 10,0 | 6,7 | 0,0 |
| Guajarina  | 26,7            | 6,7  | 40,0 | 6,7  | 6,7           | 3,3  | 3,3  | 0,0  | 6,7           | 3,3  | 3,3 | 0,0 |
| Karimunda  | 66,7            | 13,3 | 20,0 | 0,0  | 6,7           | 0,0  | 6,7  | 0,0  | 6,7           | 6,7  | 6,7 | 0,0 |
| Kottanadan | 13,3            | 0,0  | 0,0  | 0,0  | 10,0          | 16,7 | 0,0  | 0,0  | 3,3           | 10,0 | 0,0 | 3,3 |
| Alencar    | 50              | 20   | 46,7 | 26,7 | 13,3          | 10,0 | 23,3 | 23,3 | 33,3          | 3,3  | 0,0 | 0,0 |

Emissão de radícula (ERD); Emissão de cotilédones (ECT); e plântula formada (PF).

### Conclusão

Os tratamentos T1(sem GA<sub>3</sub>) e T2(50 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>) apresentaram as maiores porcentagem dos estádio de germinação *in vitro* de sementes de pimenteira-do-reino, para todas as cultivares utilizadas neste experimento. O meio MS/2 desprovido de GA<sub>3</sub> é suficiente para promover a germinação *in vitro* das sementes de pimenteira-do-reino.

### Referências Bibliográficas

- LEONEL, S.; ONO, E.; RODRIGUES, J. D. Ação de giberelinas e citocininas na germinação de sementes de laranja Azeda. **Revista de Agricultura, Piracicaba**, v. 69, n. 2, p. 201-211, setembro, 1994.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NABIAR, P.K.V.; PILLAY, V.S.; SASIKUMARAN, S.; CHANDY, K.C. Pepper research at panniyur: a resume. **Journal of Plantation Crops**, v.6, n.1, p.4-11, 1978.
- SOARES, F. P.; PAIVA, R.; STEIN, V. C.; NERY, F.C.; NOGUEIRA, R. C. OLIVEIRA, L. M. Efeito de meios de cultura, concentrações de GA<sub>3</sub> e pH sobre a germinação *in vitro* de mangabeira (*hancornia speciosa gomes*). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1847 -1852, 2009.