

EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA INDUÇÃO DE BROTAÇÕES MÚLTIPLAS DE PIMENTA DO REINO (*Piper nigrum*)

ROCHA, C. B. R.¹; MENEZES I. C.²; LAMEIRA O. A.³; LEMOS O. F.⁴ NOGUEIRA R. C.¹

A Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) é considerada um dos principais produtos agrícolas de exportação e fonte de divisa da região amazônica. O Brasil é o quarto maior produtor mundial de pimenta do reino, sua produção em 1997 foi em torno de 12.000 toneladas, cerca de 8,2% da produção mundial. O Pará é o Estado que mais produz essa especiaria, cerca de 90% da produção nacional. Em 1998 a pimenta-do-reino registrou um aumento na taxa de exportação da ordem de 49,83%. Sua participação nos produtos exportados pelo Estado atingiu 3,34% em 1998, porém desde de 1991 a safra Brasileira vem sofrendo uma queda, tendo como o seu principal fator a doença fusariose (*Fusarium solani* f.sp.*piperis*), que diminui o ciclo produtivo da cultura e eleva o custo de produção, isso implica na necessidade de utilizar novas técnicas para o aumento da vida útil da pimenta com obtenção de mudas assépticas e proliferação *in vitro* de mudas selecionadas. As técnicas de cultura de tecido apresentam algumas alternativas para auxiliar nos programas de melhoramento, seja através da micropropagação, indução de variabilidade genética ou conservação de germoplasma.

O objetivo desse trabalho foi, através das técnicas de micropropagação, estabelecer protocolo para multiplicação de pimenta-do-reino e estabelecer taxa de multiplicação por subcultivo *in vitro*.

Foram utilizados frutos maduros de plantas da cultivar guajarina. Estes frutos foram lavados em água corrente com sabão neutro e submetidos a uma pré-asepsia em hipoclorito de sódio (NaOCl) 0,5% e colocados a 38°C *overnight*. Em seguida estes frutos foram despulpados e lavados em água destilada e em câmara de fluxo laminar, tratados com álcool 70% por 1 minuto e NaOCl 2% por 15min. e então lavados em água destilada esterilizada por 5 vezes. Foram utilizados os ápices caulinares e seguimentos nodais das plântulas germinadas *in vitro*.

Os explantes foram estabelecidos em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) ao qual se acrescentou BAP a 2,5mg/L isoladamente ou nas concentrações 1,5; 2,5; 3,5mg/L combinado com 0,3mg/L de GA₃ e AIA 0;0 e 0;2mg/L num total de sete tratamentos. Foram feitos 3 subcultivos com intervalo de 30;40 e 120 dias. Os dados foram analisados segundo esquema de análise de variância inteiramente casualizado com teste de Duncan a 5% para comparação das médias, utilizando-se o sistema de análise estatística SANEST do Instituto Agrônômico de Campinas

No período de estabelecimento a média geral apresentada foi de 0,4 propágulos/explante e entre os tratamentos utilizados não foi observado diferença significativa entre as médias, que variaram de 0,4 a 0,7 propágulos/explante, sendo que no tratamento T₇ não houve emissão de brotos (Tabela 1).

Esses valores citados mostram-se inferiores às médias obtidas no subcultivo 1 que teve como média geral 1,6 propágulos/explante, variando entre 1,2 e 2,2 propágulos/explante, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. A maior média encontrada no segundo subcultivo foi de 5,7 propágulos/explante, mostrando-se um pouco superior a maior média obtida no subcultivo anterior. A média geral neste subcultivo foi de 3,8 propágulos/explante e como nas outras avaliações não houve diferenças estatísticas. Para o terceiro subcultivo, não foi feita análise estatística sendo a maior média 5,8 propágulos/explante e a menor 2,5.

¹ Bolsista do PIBIC/CNPq/EMBRAPA - Acadêmico do 6^o semestre do curso de Bacharelado em Biologia - UFPA

² Téc. Especializada M.Sc. Embrapa Amazônia Oriental, Trav. Enéas Pinheiro s/n CP 48 CEP 66.095-100 Belém-PA

³ Pesquisador Dr. Embrapa Amazônia Oriental

⁴ Pesquisador M.Sc. Embrapa Amazônia Oriental

Tabela 1: Média de explantes de pimenta-do-reino obtidas no estabelecimento e subcultivos *in vitro* em meio MS suplementado com auxina, giberelina e citocinina.

Tratamento ¹	Estabelecimento	1º. Subcultivo	2º. Subcultivo	3º. Subcultivo
T ₁	0,7 a	2,2 a	5,7 a	5,6
T ₂	0,6 a	2,0 a	4,2 a	5,2
T ₃	0,5 ab	1,7 a	4,0 a	4,7
T ₄	0,4 ab	1,7 a	3,5 a	5,8
T ₅	0,4 ab	1,2 a	3,2 a	5,4
T ₆	0,4 ab	1,2 a	3,2 a	5,4
T ₇	0,0 b	1,2 a	3,0 a	2,5

¹Meio de Cultura MS suplementado com ácido indolacético (0,0 ou 0,2mg/L), 6-benzilaminopurina (1,5 ; 2,5 ou 3,5mg/L) e ácido giberélico (0,3mg/L): T₁(AIA - 0,2mg/L ; BAP - 1,5mg/L ; GA₃ - 0,3mg/L) ; T₂(AIA - 0,2mg/L ; BAP - 2,5mg/L ; GA₃ - 0,3mg/L) ; T₃(AIA - 0,2mg/L ; BAP - 3,5mg/L ; GA₃ - 0,3mg/L) ; T₄(AIA - 0,0mg/L ; BAP - 1,5mg/L ; GA₃ - 0,3mg/L) ; T₅(AIA - 0,0mg/L ; BAP - 2,5mg/L ; GA₃ - 0,3mg/L) ; T₆(AIA - 0,0mg/L ; BAP - 3,5mg/L ; GA₃ - 0,3mg/L) ; T₇(BAP - 2,5mg/L).

² Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5% pelo teste de Duncan.

Durante a fase de estabelecimento foi verificado baixa emissão de brotos. Estes resultados estão de acordo com as observações feitas por Mantell (1994), que relata ser esta fase intermediária entre a fase de assepsia e multiplicação, na qual o explante adapta-se às novas condições de cultivo. Nos cultivos subsequentes apesar de não ter sido verificado diferença significativa entre os tratamentos, nota-se um aumento numérico a cada subcultivo realizado. Provavelmente este aumento do número de brotos nos subcultivos esteja relacionado com o efeito cumulativo da citocinina (BAP), verificado em cultivos *in vitro*.

Os resultados do tratamento utilizando BAP isoladamente, parecem ter sido influenciados pela ausência de auxina no período de estabelecimento. Krikorian (1991), relata que níveis baixos de auxinas são necessários para manutenção e iniciação de culturas *in vitro*. Segundo Menezes (1997) o uso de AIA tornou mais eficiente a indução de brotos de pimenta-do-reino sob a ação de BAP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EXPORTAÇÕES sofrem queda. **O Liberal**, Belém, 1 mar. 1999

KRIKORIAN, A. D. Estabilidade genotípica en células, tejidos y plantas derivadas de cultivo *in vitro*. In: Roca, W. M.; Mroginski, L. A. **Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos e Aplicaciones**. Cali: CIAT. p. 313-338, 1991.

MANTELL, S. H; MATTHEWS, J. A; MCKEE, R. A. **Princípios de biotecnologia em plantas: Uma introdução a engenharia genética de plantas**. Ribeirão preto: sociedade brasileira de genética, 1994, 344 p.

MENEZES, I. C.; Morfogênese *in vitro* em tecido somático de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Belém: Mestrado - Universidade Federal do Pará. 1997. 86p.

PEPPER REPORT, Castanhal: OKAJIMA- Agrocomercial Ltda, 1998.