



EFITOS DA CITOCININA 2ip NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DAS ESPÉCIES *PIPER HISPIDINERVUM* E *P. ADUNCUM*

DENISE ARRUDA DA SILVA¹; NADJA RAYAD DA SILVA MOREIRA²; CANDIDA ELISA MANFIO³; ANDREA RAPOSO⁴;
1,2,4.EMBRAPA ACRE, SENADOR GUIOMARD, AC, BRASIL; 3.UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE, RIO BRANCO, AC, BRASIL;
denise.arrudaa@hotmail.com

Resumo: Pertencentes à família das Piperaceas a pimenta longa (*Piper hispidinervum*) e a pimenta de macaco (*Piper aduncum*) apresentam grande potencial econômico por possuírem óleo essencial rico nos respectivos compostos secundários, safrol e dilapiol, compostos de grande importância nas indústrias de cosméticos e bioinseticidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações da citocinina 2ip (isopenteniladenina) na multiplicação de propágulos de pimenta longa e pimenta de macaco (*P. hispidinervum* e *P. aduncum* respectivamente). Brotos oriundos de plântulas germinadas *in vitro* foram inoculados em meio semi-sólido MS pleno com 3% de sacarose e suplementado com diversas concentrações de 2ip (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mg.L⁻¹). As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura controlada de 25±2°C, expostas ao fotoperíodo de 16 horas de luz com intensidade luminosa de 30 μmol.m².s⁻¹. Após 50 dias de incubação foram avaliados: o comprimento da parte aérea do maior broto (CPA), o número de brotos (NB), o número de nós do maior broto (NNB) e a presença de calos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 6 repetições por tratamento e 4 explantes por repetição. Verificou-se que a utilização do 2ip não induziu o aumento na taxa de multiplicação das espécies em estudo. Apesar de estatisticamente não significativo verificou-se que em alguns dos tratamentos que utilizaram esta citocinina ocorreu a formação de calos em ambas às espécies.

Palavras-chave: 2ip; cultivo *in vitro*, multiplicação, *Piper aduncum*, *Piper hispidinervum*

Introdução

As espécies *Piper hispidinervum* e *P. aduncum* conhecidas como pimenta longa e pimenta de macaco respectivamente, são espécies nativas da Amazônia, pertencentes família das Piperaceas. Encontradas com abundâncias em áreas de capoeiras do Acre, e estão entre as principais plantas aromáticas fornecedoras de óleos essenciais, rico nos respectivos compostos secundários, safrol e dilapiol. Substâncias com grande apelo comercial por possuírem principalmente efeito fungicida, inseticida e larvicida.



Contudo, por ainda se tratarem de espécies em fase de domesticação e sendo praticamente desconhecidas do ponto de vista científico, pesquisas envolvendo métodos mais eficientes de propagação e conservação e que possibilitem avanços no melhoramento vegetal destas espécies ou que favoreçam a síntese de safrol e dilapiol, se fazem necessários (GUEDES; PERREIRA, 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações da citocinina 2ip (isopenteniladenina) na multiplicação de propágulos de ambas as espécies.

Material e Método

O experimento foi conduzido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular da Embrapa Acre. Brotos oriundos de plântulas germinadas *in vitro* foram inoculados em meio semi-sólido MS pleno com 3% de sacarose. Os tratamentos consistiram em diferentes concentrações da citocinina 2ip (isopenteniladenina) (0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹). As culturas foram mantidas em sala de crescimento à temperatura controlada de 25±2°C, expostas ao fotoperíodo de 16 horas de luz com intensidade luminosa de 30 µmol.m².s⁻¹.

Após 50 dias de incubação, foram avaliados: comprimento da parte aérea do maior broto (CPA), número de brotos (NB), número de nós do maior broto (NNB) e presença de calos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 6 repetições por tratamento e 4 explantes por repetição. Os dados obtidos foram comparados por meio da análise de variância, utilizando teste Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

O principal objetivo da multiplicação é aumentar no número de plantas que serão obtidas no final da micropropagação, de acordo Grattapaglia e Machado (1990) o importante é se obter uma taxa média satisfatória com o mínimo de variação de explante para explante, além da qualidade e homogeneidade das partes aéreas produzidas, o que vai determinar o sucesso da fase seguinte de enraizamento.

Como pode ser observado nas Tabelas 1 e 2 não ocorreu diferença estatística significativa entre os tratamentos em todas as variáveis analisadas, para as duas espécies estudadas. Apesar de ter sido estatisticamente não significativo, verifica-se que em alguns dos tratamentos que utilizaram o 2ip ocorreu a formação de calos em ambas às espécies. Este fato pode sugerir que para estas espécies a utilização desta citocinina pode estar promovendo efeitos indesejados aos explantes, ou seja, o aparecimento de calos.



Verificou-se que o tratamento sem a presença do 2ip (Tabela 1 e 2) proporcionou uma taxa de multiplicação de 2,79 e 3,35 brotos/explantes, respectivamente para *P. hispidinervum* e *P. aduncum*.

Tabela 1. Influência das concentrações de 2ip na multiplicação *in vitro* de *Piper hispidinervum*. CPA- comprimento da parte aérea; NB- numero de brotos; NNB- número de nos do maior broto.

Tratamento (mg.L ⁻¹ de 2ip)	CPA (mm)	NB	NNB	N ^o calos
0,0	9,61 a	2,79 a	1,83 a	0,00 a
0,5	21,85 a	2,69 a	1,75 a	0,00 a
1,0	6,32 a	1,70 a	1,35 a	0,20 a
2,0	9,02 a	1,45 a	1,15 a	0,60 a
4,0	11,59 a	3,05 a	1,92 a	0,67 a

* As médias foram comparadas por ANOVA, e seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Influência das concentrações de 2ip na multiplicação *in vitro* de *Piper aduncum*. CPA- comprimento da parte aérea; NB- numero de brotos; NNB- número de nos do maior broto.

Tratamento (mg.L ⁻¹ de 2ip)	CPA (mm)	NB	NNB	N ^o calos
0,0	9,72 a	3,35 a	1,70 a	0,00 a
0,5	6,87 a	2,05 a	1,90 a	0,80 a
1,0	6,34 a	2,62 a	1,29 a	0,00 a
2,0	11,76 a	2,75 a	1,96 a	0,00 a
4,0	9,08 a	2,25 a	1,25 a	0,17 a

* As médias foram comparadas por ANOVA, e seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O tipo de citocinina e sua concentração são os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*. Silva (2010) estudando a influência do BAP na multiplicação de *Piper hispidinervum* e de *Piper aduncum* verificou que a utilização desta citocinina proporcionou aumento no número de brotações e menor altura destas, além do aparecimento de calos em todas as concentrações utilizadas.



Verificou-se que no tratamento controle, sem adição de 2ip, não foi observada a presença de calos. Segundo Caldas et al.(1998) o 2ip permite apenas o crescimento normal sem brotações múltiplas, e nem formação de calos.

Conclusão

A utilização do 2ip independente da concentração utilizada favoreceu o aparecimento de calos e não proporcionou aumento significativo no número de brotações formadas para as duas espécies.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Fundo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do estado do Acre e à Embrapa Acre pelo apoio financeiro. Ao CNPq e pela bolsa de AT.

Referências Bibliográficas

- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CBAB, 1998. p. 261-296.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.
- GUEDES, R. da S.; SCHIMITZ, G.C.B.; MACIEL, S. de A.; OLIVEIRA, J.P. de; PEREIRA, J.E.S. Avaliação da germinação de sementes e do desenvolvimento inicial de plantas de pimenta longa in vitro. Anais do XLVI Congresso Brasileiro de Olericultura. 2006.
- SILVA, T.L. **Micropropagação, Indução da Calogênese e Estratégias de Conservação *Ex Situ* de *Piper aduncum* L. e *Piper hispidinervum* C.DC. por Técnicas de Crescimento mínimo e Temperaturas Subzero e Criogênicas**. Manaus, AM: UFAM, 2010. 152 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, 2010.