



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2016



EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.)

Gleyce Kelly de Sousa Ramos¹, Oriel Filgueira de Lemos², Elisa Ferreira Moura Cunha², Danielle Pereira Mendonça³, Orlando Maciel Rodrigues Junior³, Fernanda Beatriz Bernaldo da Silva³

¹Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, Universidade Federal Rural da Amazônia, gleyceramos17@yahoo.com.br

²Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, oriel.lemos@embrapa.br; elisa.moura@embrapa.br

³Estudante de agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, daniellepereiraam@gmail.com; orlando_maciel@hotmail.com; fernanda_bernaldo@hotmail.com

Resumo: A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma importante especiaria usada em diversas industriais e é um dos principais produtos agrícolas da pauta de exportações do estado do Pará. A propagação vegetativa, método comercial de produção de mudas de pimenteira-do-reino, se realizada a partir de plantas matrizes infectadas com vírus, promove à degenerescência da planta e prejuízos na produtividade. A temperatura elevada é uma alternativa para a limpeza clonal via micropropagação. O objetivo desse estudo foi verificar a termotolerância dos brotos cultivadas *in vitro* visando a limpeza clonal. Os explantes (gemas apicais e laterais) foram cultivados *in vitro* em experimentos preliminares de termotolerância. As temperaturas usadas foram: 32 °C, 33 °C, 34 °C, 36 °C e 38 °C, com fotoperíodo de 16 h. luz. Foram avaliados: taxa de oxidação e desenvolvimento de novas folhas. Explantes de pimenteira-do-reino permaneceram incubadas em câmaras do tipo BOD com ajuste de temperatura por 30 dias em cada temperatura. À temperatura de 38 °C ocorreu elevada taxa de oxidação dos explantes e sem desenvolvimento de brotos enquanto à temperatura de 32 °C, os explantes diferenciaram *in vitro* com novas brotações e folhas, sem oxidação. A temperatura dos explantes *in vitro* influencia diretamente da taxa de sobrevivência e desenvolvimento de pimenteira-do-reino micropropagadas, sendo sugerida a temperatura de 32 °C para auxiliar a limpeza clonal no processo de micropropagação.

Palavras-chave: oxidação, *Piper nigrum* L, termoterapia



Introdução

A Índia é o centro de origem da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L), que é uma importante especiaria usada para diversos fins, e um dos principais produtos agrícolas da pauta de exportações do estado do Pará – o principal produtor brasileiro.

O método de propagação comercial, vegetativa, a partir de plantas infectada com a presença de vírus, favorece a disseminação do mesmo, que se acumula nas plantas acarretando queda elevada na produção e sua degenerescência (MEISSNER FILHO, 2013).

Cultivo *in vitro* de plantas é o conjunto de técnicas usadas para propagação massal de plantas a partir de pequenos fragmentos em um ambiente criado artificialmente, em condições fitossanitárias adequadas. A termoterapia é um procedimento em que o material vegetal é submetido à elevada temperatura por um determinado período e sugere a prevenção de novas infecções pelo patógeno nas brotações em desenvolvimento (BEDENDO et al., 2013).

O cultivo *in vitro* com o auxílio da termoterapia poderá se tornar uma alternativa viável na regeneração de plantas livres de vírus via micropropagação (BOARI, 2008; LEMOS et al., 2011). O objetivo desse estudo foi verificar a termotolerância dos brotos cultivadas *in vitro* visando a limpeza clonal

Material e Métodos

As gemas apicais e laterais foram cultivadas *in vitro* como explantes nos experimentos preliminares de termotolerância.

Os explantes de pimenteira-do-reino foram cultivados em meio de cultura “MS”, com 0,2 mg L⁻¹ de AIA e 0,5 mg l⁻¹ de BAP, cujo pH foi aferido para 5,8 antes da autoclavagem (120°C e 1 atm) por um período de 20 minutos, em condições de cultivo de diferentes temperaturas.

Para seleção de temperatura, explantes de pimenteira-do-reino permaneceram por um período de 30 dias de cultivo em condições de temperaturas de 34 °C, 36 °C e 38 °C, fotoperíodo de 16 h.luz, e avaliação quanto a taxa de sobrevivência em intervalo de 5 dias. A partir deste experimento, outras temperaturas a partir daquela (34 °C) em que ocorreu a menor oxidação, um novo experimento foi instalado com as temperaturas de 32 °C, 33 °C, 34 °C, com 5 frascos por tratamento, sendo cada frasco uma repetição contendo 5 explantes. Após 30 dias foram avaliadas as



características do material cultivado *in vitro*. Explantes de pimenteira-do-reino permaneceram incubadas em câmaras do tipo BOD com ajuste de temperatura por 30 dias de cada temperatura experimental. Após 30 dias foi avaliada a taxa de oxidação e desenvolvimento de novas folhas.

Resultados e Discussão

As temperaturas influenciaram diretamente a taxa de sobrevivência dos explantes de pimenteira-do-reino. Ao longo do tempo, a taxa de sobrevivência foi declinando à medida que se aumentou a temperatura (Figura 1). Os explantes cultivados a 34 °C apresentaram percentagem de oxidação de 13% após 30 dias de cultivo, e os sinais evidentes de oxidação se iniciaram aos 25 dias de cultivo. À temperatura de 36 °C, os explantes, a partir do primeiro dia de cultivo, apresentaram sinais de oxidação, chegando a atingir 100% dos explantes após 15 dias de cultivo. À 38 °C, nas condições cultivadas, ocorreu a severidade de oxidação ao material vegetal, uma vez que nos primeiros dias de cultivo a oxidação passou de 50%, chegando aos 100% em 10 dias (Figura 1).

Além de influenciar na taxa de sobrevivência dos explantes de pimenteira-do-reino, a temperatura influenciou na taxa de desenvolvimento. Nas temperaturas de 33 e 34 °C, os explantes permaneceram estabelecidos e somente a partir dos 30 dias de cultivo que os explantes começaram a se desenvolver, apresentando novas folhas. À temperatura 32º C, os explantes sobreviveram e o desenvolvimento *in vitro* foi normal com diferenciação de novas brotações e folhas, e até aos 30 dias de cultivo não havia sinais de oxidação (Figura 1).

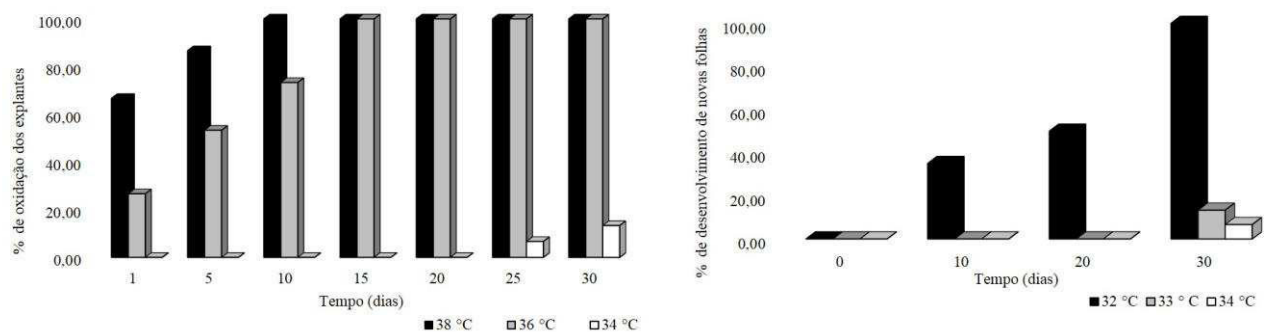


Figura 1: Diferentes temperaturas no desenvolvimento *in vitro* de explante de pimenteira-do-reino



Enzimas responsáveis pela oxidação dos tecidos vegetais tem seu ponto ótimo em elevadas temperaturas (SILVA et al., 2009), assim, quanto maior a temperatura mais efetiva será a ação das enzimas que atuam no processo de oxidação, corroborando com os resultados obtidos.

Larkindale e Knight (2002) verificaram uma baixa taxa de sobrevivência de plantas submetidas ao estresse provocado pela temperatura elevada.

Conclusões

A temperatura dos explantes *in vitro* influencia diretamente na taxa de sobrevivência e desenvolvimento de pimenteiras-do-reino micropropagadas associadas ao fenômeno da oxidação. Plantas infectadas por vírus devem ser submetidas à temperatura de 32 °C para auxiliar no processo de micropropagação visando a limpeza clonal da cultura.

Agradecimentos

A Embrapa Amazônia Oriental, pelo suporte necessário para desenvolver as pesquisas. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão das bolsas de estudos e financiamento das pesquisas.

Referências Bibliográficas

BEDENDO, I.; MASSOLA JUNIOR, N.; AMORIM, L. Controle cultural, físico e biológico de doença de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 227-254.

BOARI, A. J. **Avaliação do banco ativo de germoplasma de pimenteira-do-reino quanto a virose e elaboração de estratégia de controle**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 22 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 343).

LARKINDALE, J.; KNIGHT, M. R. Protection against heat stress-induced oxidative damage in *Arabidopsis* involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. **Plant physiology**, v. 128, n. 2, p. 682-695, 2002.

LEMONS, O. F.; POLTRONIERI, M. C.; RODRIGUES, S. de M.; MENESES, I. C. de; MONDIN, M. **Conservação e melhoramento genético de pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) associado às**



**20º Seminário de Iniciação Científica e 4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental**

21 a 23 de setembro de 2016, Belém, PA.

técnicas de biotecnologia. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2011. 45 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 375).

MEISSNER FILHO, P. E. Indexação de plantas para viroses. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas.** 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. p. 55-72.

SILVA, M. V.; ROSA, C. I. L. F.; BOAS, E. V. de B. V. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 83-96, jan./jun. 2009.