



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

EFEITO DE FITORREGULADORES NO CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS IMATUROS DE PIMENTA-DO-REINO

Dayane Nascimento Pena¹; Simone de Miranda Rodrigues², Oriel Filgueira de Lemos³

¹Acadêmica do Curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia; Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental; Email daypena@hotmail.com

²Orientadora/Pesquisadora Dra. da Embrapa Amazônia Oriental

³Pesquisador Dr. da Embrapa Amazônia Oriental

Resumo: A pimenta-do-reino, originada da Índia (*Piper nigrum*), foi introduzida no Brasil pelos portugueses, principalmente para consumo doméstico. Os primeiros plantios ocorreram em Tomé-Açu/PA, com a participação dos japoneses, depois se expandindo para outras regiões. Foi a partir dessa região que o Brasil tornou-se um dos principais produtores dessa piperácea. Com o surgimento da fusariose, ocorreram perdas na produção, devido à redução do ciclo produtivo. Para tentar solucionar o problema, optou-se por utilizar a cultura de tecido como uma maneira de propagação de plantas saudáveis *in vitro*, na qual faz parte do programa de melhoramento genético da espécie. Portanto, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de fitorreguladores no cultivo *in vitro* de embriões zigóticos imaturos de duas cultivares de pimenta-do-reino, Bragantina e Bento. Assim, embriões zigóticos dessas cultivares foram isolados e cultivados em meio contendo BAP, TDZ e AIA durante 67 dias, e avaliados quanto à oxidação e a emissão de folhas. Os melhores resultados foram obtidos quando a cultivar Bento foi cultivada em meio suplementado com AIA, enquanto que a cultivar Bragantina apresentou melhor desempenho em meio contendo BAP.

Palavra-chave: cultura de tecidos, embrião zigótico, *Piper nigrum*

Introdução

A cultura da pimenta-do-reino foi introduzida no Brasil pelos portugueses durante o período colonial. Inicialmente era cultivada na forma de pequenos pomares para o consumo doméstico. A partir da década de 30, começou a ter importância comercial com a participação japonesa na região de Tomé-Açu no Pará. Atualmente, o Brasil ocupa o quarto lugar entre os principais produtores desta piperácea com uma produção anual que varia de 20 a 45 mil toneladas. (Duarte et al., 2005).

A fusariose ou podridão das raízes é considerada a principal doença da pimenteira no Brasil. Os primeiros focos da doença ocorreram em Tomé-Açu na década de 60. Para tentar solucionar o problema, vários estudos foram realizados. Entre eles, a cultura de tecidos tem sido usada como uma



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

opção ao programa de melhoramento genético dessa cultura, com o uso de ápices caulinares, embriões somáticos e mutageneses *in vitro* para obtenção de plântulas de pimenta-do-reino.

Devido essa especiaria apresentar maturação muito tardia, tem-se dificuldade de obtenção de sementes durante todo o ano. Como as sementes da pimenta-do-reino são consideradas recalcitrantes, não possuem potencial germinativo depois de ser armazenada, uma alternativa para obtenção de plântulas de pimenta-do-reino, livre de patógeno, em outras épocas do ano, é realizar estudos com explantes imaturos de pimenta-do-reino. Assim, esse trabalho tem como objetivo avaliar o desenvolvimento de embriões zigóticos imaturos de pimenta-do-reino em meio suplementado com diferentes tipos de fitorreguladores, como alternativa para obtenção de plântulas de pimenta-do-reino *in vitro* durante os meses de pré-amadurecimento dos frutos.

Material e Métodos

Frutos verdes imaturos das cultivares Bragantina e Bento foram coletados do BAG de Pimenta-do-reino da Embrapa Oriental. Primeiramente, eles foram tratados com água corrente, detergente e hipoclorito de sódio, antes do despulpamento dos mesmos. Para a realização desse processo, foi usado cadinho e pistilo. Os frutos foram amassados com cuidado para que as sementes não quebrassem. Visando o isolamento dos embriões, as sementes foram incubadas com hipoclorito de sódio a 0,5% (v/v) a 37°C por 14 h, seguido de imersão em etanol 70% (v/v), por 1 min, e incubadas com hipoclorito de sódio comercial a 1,25% (v/v) acrescido de tween 20 a 0,1% (v/v), durante 15 min. A etapa seguinte consistiu em cinco lavagens das sementes em água destilada autoclavada.

Nesse experimento foram testados três fitorreguladores, BAP (6-benzilaminopurina), TDZ (thidiazuron) ou AIA (ácido 3-indol-acético) (1 mg.L⁻¹ cada), com oito repetições para cada tratamento. Esses foram adicionados ao meio MS (Murashige e Skoog, 1962), contendo sacarose a 3%, solidificado com 0,8 % (p/v) de ágar, e pH acertado para 5,8 ± 0,1 antes da autoclavagem.

Embriões zigóticos foram isolados e introduzidos em frascos de 250 ml contendo 30 ml de meio MS e um dos fitorreguladores. Os embriões foram cultivados em sala de crescimento sob temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 h e irradiância de 50 μmol.m⁻².s⁻¹. Esses explantes foram monitorados durante 67 dias quanto à intensidade de oxidação, a formação de calos, e a formação de folhas, visto esse último ser o caráter mais adequado para avaliar a germinação dos embriões da pimenta-do-reino. Os resultados foram analisados considerando um DIC. A análise de variância foi feita utilizando o programa ESTAT, seguido de teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



Resultados e Discussão

Após a inoculação dos embriões zigóticos imaturos nos frascos, os primeiros resultados foram obtidos com 22 dias de cultivo nas condições de luz. Aos 67 dias, os embriões colocados para germinar nos meios suplementados com BAP resultaram na indução de calos na região do tecido do endosperma, seguido de germinação de 22% e 47% para as cultivares Bragantina e Bento, respectivamente. Os explantes cultivados em meio suplementado com AIA, apresentaram 15% e 67% de germinação para cultivar Bragantina e Bento, respectivamente. Enquanto que os embriões introduzidos nos meios contendo TDZ, resultaram na germinação de 47% para cultivar Bragantina e 25% de germinação para a cultivar Bento. Para essa última condições foram observadas plântulas com a anatomia diferenciadas, sendo consideradas plantas malformadas.

Entre as cultivares estudadas, houve diferença significativa na média de oxidação dos embriões zigóticos inoculados. A cultivar Bragantina apresentou os maiores índices de oxidação comparada a cultivar Bento. Analisando-se o número de folhas emitidas durante o período de cultivo das plântulas, observou-se diferença significativa entre as cultivares. A cultivar Bento obteve maiores médias de surgimento de folhas, quando comparada a cultivar Bragantina, como mostrado na (Tabela 1).

Tabela 1 Avaliação das cultivares de pimenta-do-reino quanto às médias de oxidação e o surgimento de folhas após 67 dias e cultivo. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Turkey a 5% de significância.

Cultivares	Média Oxidação	Média N°. de Folhas
Bragantina	4,47 a	3,27 b
Bento	1,77 b	5,94 a

A análise comparativa entre os tratamentos para cada cultivar revelou não houve diferença significativa para a cultivar Bragantina; enquanto para a cultivar Bento, os melhores resultados ocorreram quando os embriões foram cultivados em meio contendo AIA. O cultivo dos explantes em meio contendo o fitorregulador AIA resultou em diferença significativa entre as cultivares usadas nesse estudo, com a cultivar Bento apresentando os maiores números de surgimento de folhas, após a germinação dos embriões e obtenção das plântulas. Já no meio suplementado com TDZ, não houve diferença significativa dentro desse tratamento, mas a cultivar Bragantina apresentou os maiores números de surgimento de folhas. Entretanto, esse fitorregulador resultou em plântulas mal formadas para as duas cultivares. Portanto, o melhor tratamento para cultivar Bragantina foi o cultivo dos embriões imaturos em meio contendo o BAP, enquanto a cultivar Bento respondeu melhor meio



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

contendo o fitorregulador AIA (Figura 1).

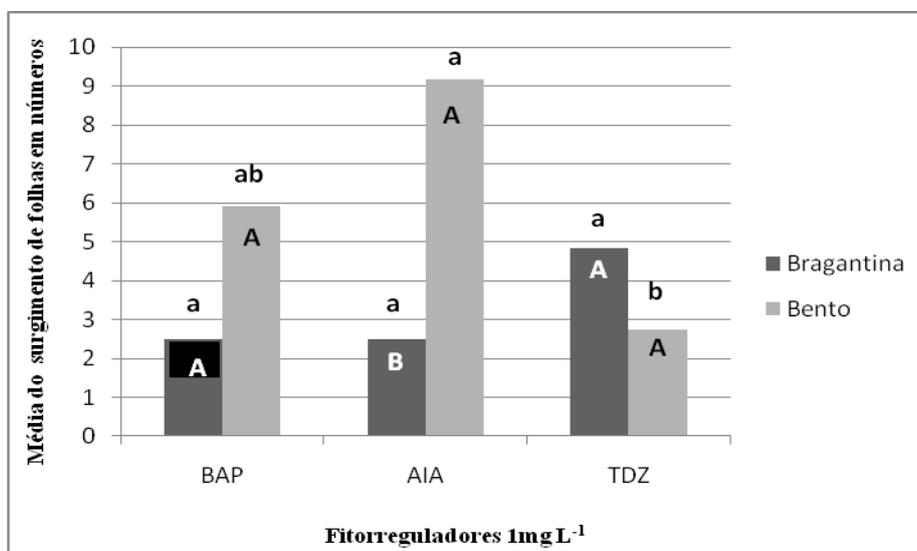


Figura 1 Influência dos fitorreguladores na organogênese de embriões zigóticos imaturos de pimenta-do-reino. Comparações de médias entre os tratamentos são indicados por letra minúscula, enquanto que comparações de médias dentro de cada tratamento são indicadas por letras maiúsculas. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Turkey a 5% de significância.

Conclusão

Como a pimenteira-do-reino possui sementes recalcitrantes, o estudo mostrou a possibilidade de obtenção de plântulas de pimenta-do-reino a partir de embriões imaturos das cultivares estudada. Entretanto, as mesmas diferiram entre si tanto quanto ao nível de oxidação dos embriões zigóticos como em relação ao número médio de folhas obtidas após a germinação dos mesmos. A cultivar Bento apresentou os melhores resultados de germinação quando cultivada em meio contendo AIA, enquanto a cultivar Bragantina apresentou os melhores resultados de germinação quando cultivada em meio contendo BAP.

Referências Bibliográficas

DUARTE, M. de L.R.; ALBUQUERQUE, F.C. ALBUQUERQUE, P.S.B. **Manual de Fitopatologia**. In: Doenças da Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). Ed Ceres, v.2, p.507-516, 2005.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarem**, v.15, p 473-497, 1962.