



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

ESTABELECIMENTO DE CULTURA DE MERISTEMAS DE PIMENTEIRA-DO-REINO SOB A AÇÃO DE CISTEÍNA E PVP

Joyce Vieira da Silva Pinho¹; Oriel Filgueira de Lemos², Simone de Miranda Rodrigues³

¹Universidade Federal do Pará. joycepinho.bio@gmail.com; ²Embrapa Amazônia Oriental. oriel@cpatu.embrapa.br;

³Embrapa Amazônia Oriental. simone@cpatu.embrapa.br.

Resumo: A pimenteira do reino (*Piper nigrum* L.) é uma cultura de grande valor comercial para o Brasil, particularmente para o Estado do Pará. A expansão é limitada pelas doenças, fusariose e viroses. O objetivo deste trabalho foi o estabelecimento e desenvolvimento do cultivo de meristemas visando a limpeza clonal. Os meristemas ($\leq 1\text{mm}$) das cultivares Bragantina, Iaçará e Cingapura foram transferidos para meio de cultura MS suplementado com BAP $0,5\text{ mg.L}^{-1}$, AIA $0,2\text{mg.L}^{-1}$, sulfato de streptomicina 100 mg.L^{-1} e phytigel $0,2\%$, com adição de cisteína 40 mg.L^{-1} (CIS) e/ou PVP 100 mg.L^{-1} , submetidos previamente à desinfestação com fungicida (Derosal $0,1\%$), cloreto de mercúrio ($0,1\%$) e posteriormente durante a excisão do meristema, com sulfato de streptomicina (100 mg.L^{-1}) como antibiótico e mercaptoetanol (5mM) como antioxidante. Os meristemas foram cultivados sob condições controladas de sala de cultura. As taxas de contaminação e desenvolvimento dos explantes foram avaliadas. No meio de cultura com adição de somente PVP a cultivar Bragantina apresentou cerca de 60% dos meristemas estabelecidos e a cultivar Cingapura em meio com cisteína com 40%, e para a cultivar Iaçará com 20% tanto em meio com cisteína quanto com PVP. Conclui-se que o uso de cisteína e PVP são eficazes no controle da oxidação e favorecem o estabelecimento e desenvolvimento dos meristemas de pimenteira-do-reino.

Palavras- chave: cisteína, limpeza clonal, meristemas, micropropagação, pvp

Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta do tipo trepadeira introduzida da Índia no Brasil. Adaptou-se muito bem nas condições quente e úmida da região norte, destacando-se o estado do Pará com 90% da produção nacional. A produção estimada de 33.000 t em 2008 caracteriza a grande importância econômica da cultura para o país, porém alguns fatores têm limitado a expansão, dentre os quais as doenças, destacando-se a doença fúngica fusariose e as viroses.

A fusariose, causada pelo fungo *Fusarium solani*, assola as plantações de pimenta-do-reino



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

principalmente pela predisposição genética dos vegetais propagados de forma vegetativa para os plantios comerciais. Ademais, as doenças viróticas (PYMoV e CMV) estão colocando em riscos todas as cultivares, uma vez que todas são susceptíveis. Visando estudos para fortalecimento da pimenteira do reino a tais doenças, a Embrapa Amazônia Oriental possui um banco de germoplasma desse vegetal, o qual visa à conservação e disponibilidade das plantas para melhoramento genético. Considerando os avanços das viroses em pimenteira-do-reino e susceptibilidades ao PYMoV e CMV, estudos de limpeza clonal estão sendo desenvolvidos em laboratório para a clonagem e limpeza de plantas das cultivares via cultura de meristemas, já que, segundo Kerbauy (2008), o cultivo de meristemas é uma forma eficiente de livrar plantas de microorganismos patogênicos endógenos (vírus, micoplasmas, fungos e bactérias) que causam degenerescência de cultivares.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Embrapa Amazônia Oriental e constou da formação e desenvolvimento de plantas doadoras de explantes em casa de vegetação, e estabelecimento e cultivo de meristemas. Estacas vegetativas foram enraizadas em areia sob condições de alta umidade e transferidas para sacos de polietileno preto, 17 x 23 cm, para desenvolvimento e formação de mudas. As plantas foram quinzenalmente nutridas com solução de macro e micronutrientes do meio básico de Murashige & Skoog, 1962 (MS) e com solução de fungicida derosal a 0,2%. Das plantas, ramos ortotrópicos contendo gemas laterais e apicais foram retirados e submetidos a tratamentos de assepsia e os meristemas excisados com cerca de 1 mm com auxílio de bisturi e lupa, e inoculados, sob papel filtro, em meio básico de cultura MS suplementado com BAP 0,5 mg.L⁻¹, AIA 0,2 mg.L⁻¹, sulfato de streptomicina (100 mg. L⁻¹), phytigel 0,2%, e adição de cisteína 40 mg.L⁻¹ e/ou PVP 100 mg.L⁻¹, em três tratamentos (T1 cisteína, T2 cisteína e PVP e T3 PVP). O pH foi ajustado para 5,8 previamente à autoclavagem a 121 °C por 20 minutos. Para controle de contaminação e oxidação, algumas soluções foram utilizadas: fungicida Derosal 0,1%, Cloreto de Mercúrio 0,1%, sulfato de streptomicina 100 mg.L⁻¹ e Mercaptoetanol 50 mM.

A assepsia e controle da oxidação foram divididos em três partes: 1. **Campo:** corte da planta em casa de vegetação, em pequenos segmentos nodais e apicais e imersão em ácido cítrico (50mM); 2. **Laboratório:** lavagem em água corrente e sabão neutro, e Imersão em fungicida derosal 0,1% por 20 minutos; e 3. **Câmara de Fluxo Laminar:** os segmentos nodais e apicais foram imersos em álcool 70% por 1 min e em seguida em solução de Cloreto de Mercúrio 0,1% por 10 min e cinco lavagens



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

com água destilada autoclavada, imersão em solução de Sulfato de Streptomicina por mais 20 min. e em solução de Mercaptoetanol 50 mM (antioxidante).

À medida que os cortes foram feitos para a retirada dos meristemas, gotas de Mercaptoetanol e Sulfato Streptomicina foram aplicados nos tecidos. Os meristemas, com auxílio de lupa estereomicroscópio, foram excisados e inoculados em meio de cultura de estabelecimento e mantidos em sala de cultivo, sob fotoperíodo de 16 h luz. dia⁻¹, com intensidade de luz de 25 $\mu\text{mol. s}^{-1}.\text{cm}^{-2}$ e temperatura de $25 \pm 3^\circ \text{C}$ e durante esta fase de estabelecimento foram avaliados a oxidação e desenvolvimento de explantes.

Resultados e Discussão

Baseando-se na premissa de Kerbauy (2008) foram inoculados meristemas de três cultivares (iaçará, bragantina e cingapura); os mesmos não manifestaram altas taxas de contaminação, geralmente por fungos (Figura 1).

Quanto à oxidação, houve controle e com exceção de meio de cultura que continha PVP e cisteína, em que alguns explantes ficaram oxidados, todas as cultivares apresentaram explantes sem oxidação em meios com somente PVP ou cisteína, evidenciando que os dois combinados a ação é reduzida. No meio de cultura apenas o PVP (T₃) foi eficaz, pois alguns explantes sem oxidação iniciaram desenvolvimento, e a cultivar Bragantina com 60% dos explantes em desenvolvimento. Para a cultivar Cingapura, o meio de cultura com apenas cisteína apresentou 40% dos meristemas com desenvolvimento e a cultivar Iaçará apresentou mesma percentagem tanto em cisteína quanto em PVP, com 20% dos explantes (Figura 2). A maioria dos explantes apresentou oxidação moderada e se mantendo dessa forma (Figura 1). O tratamento com cisteína e PVP inibiu o desenvolvimento dos meristemas, pois mesmos aqueles não oxidados permaneceram sem respostas.

Conclusão

A cisteína e PVP são eficazes no controle da oxidação e permitem o desenvolvimento dos meristemas. Os meristemas da cultivar Bragantina são mais responsivos sob a ação de PVP enquanto a cultivar Cingapura em meio com cisteína. O uso de antibiótico, sulfato de streptomicina e fungicida, do tipo derosal, são promissores no controle de bactérias e fungos.



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

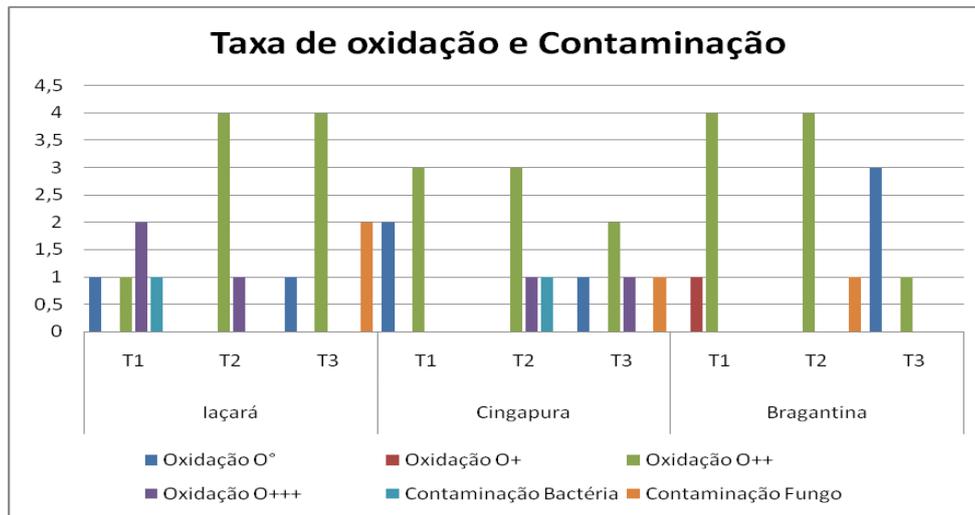


Figura 1 Oxidação e contaminação de meristema em cultura. O^0 = sem oxidação, O^+ = alguns pontos oxidados, O^{++} = oxidação moderada, O^{+++} = totalmente oxidado.

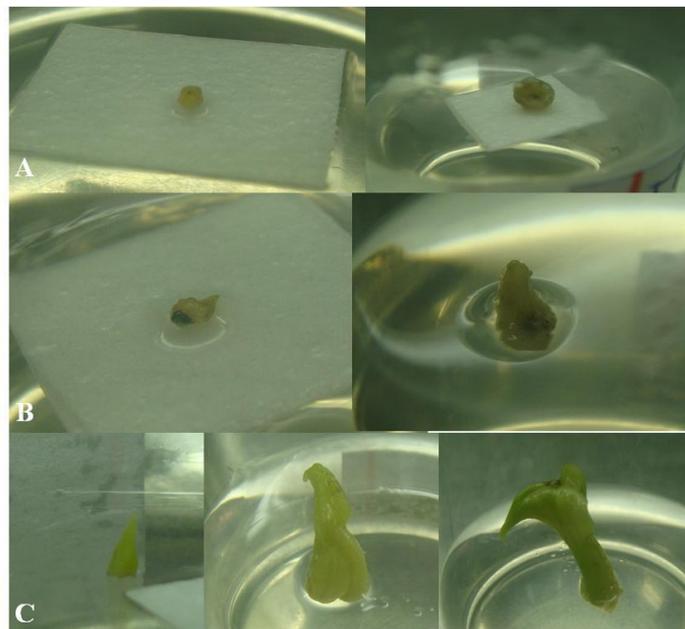


Figura 2 Cultivo de meristemas. A: cultivar Iaçará aos 12 e 30 dias; B: cultivar Cingapura aos 8 e 28 dias; e C: cultivar Bragantina aos 8, 28 dias e 37 dias.

Referências Bibliográficas

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal** - 2ª Ed. 2008.

OLIVEIRA, H.S. de; LEMOS, O.F. de. Ajustes, adaptação e desenvolvimento do processo de micropropagação em espécies de pimenta nativas da Amazônia e cultivares de *Piper nigrum* L. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA E IX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 3. **Anais...** Belém-PA: UFRA. 2005