



ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE HÍBRIDO INTRAESPECÍFICO DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum L.*) SOB A AÇÃO DE ANA E GA₃

Welber Melo da Silva¹, Oriel Filgueira de Lemos², Meiciane Ferreira Campelo³

¹ Estagiário Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Biotecnologia de Plantas, welber_mello@hotmail.com

² Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental - Orientador, Lab. de Biotecnologia de Plantas, oriel.lemos@embrapa.br

³ Mestranda em Agronomia, UFRA- bolsista CAPES- estagiária Embrapa Amazônia Oriental, Biotecnologia de Plantas, Meiciane campelo@gmail.com

Resumo: A pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*) é um dos principais produtos agrícola de exportação do Estado do Pará que em 2010 produziu 39.235 toneladas. A micropropagação é alternativa de clonagem *in vitro* para dar suporte ao programa de melhoramento genético e produzir mudas saudáveis. Este trabalho visou a diferenciação de raízes e parte aérea a partir de gemas de híbridos de pimenta-do-reino cultivadas *in vitro* sob a influência de ácido giberélico e ácido naftalenoacético. Foram utilizados gemas laterais cultivadas em meio ½ MS suplementado com ácido naftalenoacético (ANA 0,05mg.L⁻¹) e Ácido giberélico (GA₃ 0,0; 0,2; 1,0 ; 5,0 mg.L⁻¹) em delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos, considerando um tratamento sem regulador de crescimento, composto de cinco repetições e cada repetição com cinco explantes/frasco. O experimento foi estabelecido em condições controladas de cultivo por um período de cinco semanas. A avaliação foi quanto a percentagem de enraizamento, número de raízes e desenvolvimento da parte aérea, cujos resultados demonstraram que 0,05 de ANA induziu raízes em 100% dos explantes, independente da utilização de GA₃, e quando em meio de cultura com adição de 1,0 mg.L⁻¹ ou 2,0 mg.L⁻¹ de GA₃ apresentaram maiores médias do número de raiz/broto, mas maior crescimento da parte aérea no tratamento ocorreu em meio de cultura sem regulador de crescimento. Para o enraizamento de brotos a concentração de 0,05 mg.L⁻¹ de ANA é suficiente e o GA₃ não influencia no crescimento da parte aérea.

Palavras-chave: *Piper nigrum L.*, híbrido intraespecífico, ANA, GA₃.

Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores mundiais de pimenta do-reino (*Piper nigrum L.*) com um total de área cultivada de 32.857 hectares ocupando o terceiro lugar no ranking mundial, sendo o estado do Pará o principal produtor nacional com produção de 39.235 toneladas (IDESP, 2010). Entretanto, a safra brasileira vem sofrendo quedas gradativas em sua produção ao



longo dos anos, tendo como principais fatores o alto custo em sua produção e a doença fusariose, causada pelo fungo *Fusarium solani f. sp. piperis*. O método comercial de propagação, via sistema de enraizamento de estacas favorece a disseminação da doença em virtude das plantas matrizes contaminadas. Isso implica na necessidade de melhorias dos métodos de cultivo e implantação de novas técnicas que possibilitem a obtenção de mudas saudáveis, livres de agentes patogênicos, adequadas para formação de novas plantações.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no laboratório de Biotecnologia de Plantas da Embrapa Amazônia Oriental, utilizando híbrido intraespecífico de pimenta do reino (*Piper nigrum L.*) proveniente do cruzamento entre as cultivares Apra X Guajarina. Gemas axilares foram introduzidas em meio de enraizamento ½ MS suplementado com diferentes combinações de reguladores de crescimento ANA x GA₃ (Tabela 1). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, cinco tratamentos com cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por um frasco contendo cinco explantes. Após cinco semanas em meio de enraizamento sob condições controladas de cultivo e fotoperíodo de 16h.luz.dia⁻¹, intensidade luminosa de 25 μmol.s⁻¹.cm⁻² e temperatura de 25± 2°C foram avaliados a percentagem de brotos enraizados, o número de raízes por broto e o desenvolvimento da parte aérea. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Usando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

Tabela 1: Tratamentos para diferenciação de raízes e parte aérea de híbrido intraespecífico de pimenteira-do-reino em meio de cultura ½ MS suplementado com ácido naftalenoacético (ANA) e ácido giberélico (GA₃).

Explantes	Regulador de crescimento	
	ANA (mg.L ⁻¹)	GA ₃ (mg.L ⁻¹)
Gema axilares	0,0 mg.L ⁻¹	0,0 mg.L ⁻¹
	0,05 mg.L ⁻¹	0,2 mg.L ⁻¹
	0,05 mg.L ⁻¹	1,0 mg.L ⁻¹
	0,05 mg.L ⁻¹	2,0 mg.L ⁻¹
	0,05 mg.L ⁻¹	5,0 mg.L ⁻¹



Resultados e Discussão

Um dos fatores mais importantes relacionados ao processo de formação de raízes adventícias *in vitro* é inerente à presença e/ou ausência de auxina. Vários autores confirmam o seu fundamental papel no processo de rizogênese (Pasqual, 2001).

Todos os explantes diferenciaram raízes em meio de cultura com ANA (100% de enraizamento) enquanto sem regulador de crescimento somente em 60% dos explantes. As maiores taxas de número de raízes/brotos ocorreram nos tratamentos T3 (4,64) e T3 (5,40) que continham 0,05mg.L⁻¹ de ANA e 1,0 mg.L⁻¹ e 2,0 mg.L⁻¹ de GA₃, respectivamente, que não diferiram significativamente entre si. A percentagem de enraizamento esta diretamente relacionada com a adição de ANA no meio de cultura e independente da adição de GA₃, e na ausência de auxina exógena ocorreu uma significativa redução de enraizamento (Tabela 2). De acordo com McCown (1988), as dosagens efetivas de ANA para o desenvolvimento de raízes situam-se, geralmente, entre 0,05 a 10,0 mg L⁻¹ para períodos mais prolongados, como dias ou até semanas.

Quanto ao desenvolvimento da parte aérea o GA₃ não se mostrou eficiente, pois apenas o T1 apresentou brotos com parte aérea desenvolvidas (Figura 1). Apesar das giberelinas estarem envolvidas em diversas respostas de crescimento, dentre as quais promoção do alongamento celular e da atividade meristemática, uma baixa concentração de GA₃ é geralmente adicionada aos meios de cultura destinados ao desenvolvimento meristemático. Pode nem sempre ser benéfico e há resultados contraditórios (GEORGE *et al.*, 2008), como ocorrido neste experimento.

Tabela 2: Teste de comparação de média quanto a percentagem de enraizamento e o número de raízes por explante em meio de cultura com metade das concentrações de sais, suplementado com diferentes combinações de ANA x GA₃, após cinco semanas de cultivo *in vitro*.

Tratamentos ANA... x GA ³	Gema lateral	
	% enraizamento	Nº de raízes
T1	60 b	2,52 c
T2	100 a	2,75 cb
T3	100 a	4,64 ab
T4	100 a	5,40 a
T5	100 a	2,09 c

cv(%): 0,00 e dms: 0,00 ; para a variável % enraizamento.

cv(%): 32,12 e dms: 2,11 ; para a variável n° de raízes.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si.

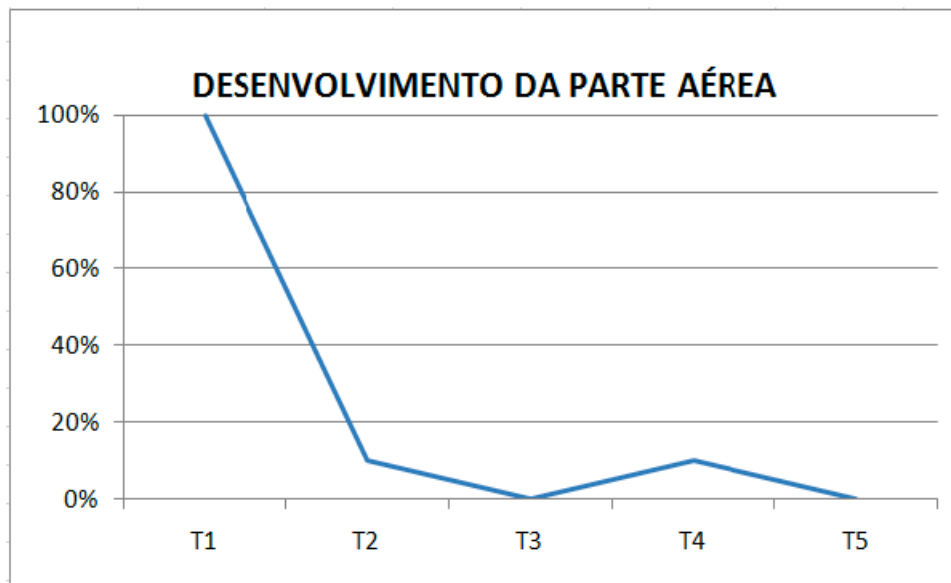


Figura 1: Desenvolvimento de parte aérea de gemas axilares de híbrido intraespecífico de pimenta do reino, T1-ANA0,0 mg.L⁻¹+ GA³0,0 mg.L⁻¹; T2-ANA0,05 mg.L⁻¹+ GA³ 0,2 mg.L⁻¹; T3-ANA0,05 mg.L⁻¹+ GA³ 1,0 mg.L⁻¹; T4-ANA0,05 mg.L⁻¹+ GA³ 2,0 mg.L⁻¹; T5-ANA0,05 mg.L⁻¹+ GA³ 5,0 mg.L⁻¹.

Conclusão

O uso da auxina ANA na concentração de 0,05 mg.L⁻¹ é eficiente para a diferenciação de raiz enquanto que a adição GA₃ não influencia significativamente no desenvolvimento da parte aérea a partir de gemas axilares de pimenteira-do-reino de híbridos intraespecíficos.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Biotecnologia de plantas da Embrapa Amazônia Oriental pelo apoio logístico.

Referências Bibliográficas

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, SOCIAL E AMBIENTAL DO ESTADO DO PARÁ – IDESP. Evolução da Quantidade Produzida de Pimenta-do-reino. Acesso em: 15 nov. 2011.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 165p.

McCOWN, B.H. Adventitious rooting of tissue cultured plants. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**, Portland: Dioscorides Press, 1988. v.2, p.289-302.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, GEERT-JAN. **Plant Propagation by Tissue Culture**, 3rd edition, V.01, The Netherlands, 501 p. 2008.