

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



18º Seminário de  
Iniciação Científica e  
2º Seminário de Pós-graduação  
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2014

12 a 14 de agosto

**Embrapa**  
Belém, PA  
2014



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

## AUXINA E SACAROSE NA RIZOGÊNESE *IN VITRO* DE PIMENTEIRA-DO-REINO

Gleyce Kelly de Sousa Ramos<sup>1</sup>, Oriel Filgueira de Lemos<sup>2</sup>, Gledson Luiz Salgado de Castro<sup>3</sup>, Lana Roberta Reis dos Santos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduanda, Universidade Federal Rural da Amazônia, bolsista PIBIC no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal da Embrapa Amazônia Oriental, gleyceramos17@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Lab. de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal, oriel.lemos@embrapa.br

<sup>3</sup>Mestrando em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, gledson.castro@ufra.edu.br

<sup>4</sup>Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, lana.robert@hotmail.com

**Resumo:** *Piper nigrum* L. destaca-se por ser geradora de renda para famílias rurais. A ocorrência de doenças limita a expansão da cultura, assim técnicas *in vitro* se constituem como ferramentas valiosas para propagar e clonar material elite. Na rizogênese ocorre formação de raízes adventícias associada à ação de reguladores de crescimento. Objetivou-se avaliar diferentes concentrações de ANA (ácido naftalenoacético) e sacarose na rizogênese *in vitro* de pimenteira-do-reino. Para o desenvolvimento das raízes, o meio de cultura utilizado foi ½ de sais MS com diferentes concentrações de ANA (0,0; 0,5; 1,0 ou 5,0  $\mu\text{M}$ ) e sacarose (20, 30 ou 40  $\text{g L}^{-1}$ ), durante seis semanas, mantidos em sala de crescimento com condições controladas de temperatura e fotoperíodo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x4, sendo 3 doses de sacarose e 4 doses de ANA. Foram utilizadas 4 repetições, sendo cada frasco com 10 explantes por repetição. Verificou-se enraizamento de 100% dos brotos usando 0,5  $\mu\text{M}$  de ANA combinada com as três concentrações de sacarose e 1,0  $\mu\text{M}$  de ANA suplementados com 20 e 30  $\text{g L}^{-1}$ . Para a indução e o desenvolvimento das raízes são necessárias doses mais elevadas de ANA e sacarose, os quais são promotores do enraizamento e o crescimento dos brotos *in vitro*.

**Palavras-chave:** ácido naftalenoacético, enraizamento *in vitro*, *Piper nigrum* L.

### Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma espécie perene, semilenhosa e trepadeira, pertencente ao gênero *Piper* e família Piperaceae. Seus frutos são considerados um dos principais produtos agrícolas da pauta de exportações do Estado do Pará, e destaca-se pela importância socioeconômica, sendo um produto gerador de renda para famílias rurais (MANUAL..., 2004). A ocorrência de doenças limita a expansão da cultura, e com isso técnicas de cultivo *in vitro* se constituem em ferramentas valiosas para a solução deste problema, por meio da propagação rápida de plantas livres de patógenos e clonagem de material elite (LEMOS et al., 2008).



A rizogênese *in vitro* é a etapa em que ocorre a formação de raízes adventícias, associada à ação de fitoreguladores, principalmente nas fases iniciais da indução e formação das mesmas. O ANA é uma auxina sintética com ação semelhante à ação de auxinas de ocorrência natural e uma das principais auxinas envolvidos no processo de enraizamento (GUERRA; NODARI, 2006). Objetivou-se avaliar diferentes concentrações de ANA e sacarose na rizogênese *in vitro* de pimenteira-do-reino.

### Material e Métodos

O ensaio foi desenvolvido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal da Embrapa Amazônia Oriental. Para formação dos brotos e raízes, os explantes da cultivar Kuthiravally de *P. nigrum* (gemas axilares e apicais) foram inoculados em meio de cultura ½ MS (MURASHIG; SKOOG, 1962) suplementado com diferentes concentrações de ANA e sacarose. O pH do meio nutritivo foi ajustado para 5,8 e semi-solidificado com 0,2% de phytigel, sendo posteriormente autoclavado a 121 °C e 1 atm por 20 minutos. O período de cultivos *in vitro* foi de seis semanas em sala de crescimento com condições controladas de temperatura ( $25 \pm 3$  °C), fotoperíodo de 16 h. e intensidade luminosa de 3.000 lux. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4, considerando três concentrações de sacarose (20, 30 ou 40 g L<sup>-1</sup>) combinadas com quatro doses de ANA (0; 0,5; 1,0 ou 5,0 µM). As avaliações foram quanto ao percentual de plantas enraizadas, número de raízes por broto, comprimento das raízes e brotos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### Resultados e Discussão

Verificou-se maior percentual de enraizamento para as três doses de sacarose combinadas com 0,5 µM de ANA e para a dose de 1,0 µM de ANA quando combinada com 20 e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose. Independente da dose do regulador de crescimento utilizado, a concentração de 40 g L<sup>-1</sup> de sacarose foi a que apresentou o maior percentual médio de enraizamento (Tabela 1).

Na tabela 2, observou-se que o meio de cultura suplementado com 5,0 µM de ANA apresentou maior valor médio de raízes por broto (7,26), e quando suplementado com 40 g L<sup>-1</sup> de sacarose destacou-se apresentando maior valor médio de raízes por broto (5,59).



Tabela 1 Percentagem de enraizamento em meio de cultura ½ MS suplementado com diferentes concentrações de ANA e sacarose.

ANA (µM)	Sacarose (g L <sup>-1</sup> )			Médias para níveis de ANA
	20	30	40	
0,0	58,73 bB	87,50 abA	86,95 aA	77,73 c
0,5	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA	100,0 a
1,0	100,0 aA	100,0 aA	92,50 aA	97,50 ab
5,0	85,0 aAB	78,37 bB	100,0 aA	87,79 bc
Médias para níveis de Sacarose	85,93 a	91,47 a	94,86 a	

CV (%) 11,91

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2 Número de raízes por broto após cultivo em meio ½ MS suplementado com doses de ANA e concentrações de sacarose.

ANA (µM)	Sacarose (mg L <sup>-1</sup> )			Médias para níveis de ANA
	20	30	40	
0,0	1,49 cA	2,64 bA	2,49 cA	2,21 c
0,5	4,49 bA	5,13 aA	5,20 bA	4,94 b
1,0	5,36 abA	4,47 abA	5,60 bA	5,14 b
5,0	7,16 aB	5,52 aB	9,09 aA	7,26 a
Médias para níveis de Sacarose	4,63 b	4,44 b	5,59 a	

CV (%) 21,78

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao comprimento das raízes, nota-se que o tratamento com 1,0 µM de ANA e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, resultou em maior média do comprimento de raiz (6,08) (Tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2009), os quais demonstraram que cultivares de *P. nigrum* L. sob a ação de 1,0 µM de ANA apresentaram melhores respostas quanto a indução e comprimento de raízes.

Tabela 3 Comprimento de raiz (cm) por broto após seis semanas em meio de cultura MS suplementado com doses de ANA e sacarose.

ANA (µM)	Sacarose (mg L <sup>-1</sup> )			Médias para níveis de ANA
	20	30	40	
0,0	2,13 aA	2,49 bA	1,83 aA	2,16 b
0,5	2,67 aA	0,97 cB	2,16 aAB	1,93 b
1,0	2,41 aB	6,08 aA	1,49 aB	3,33 a
5,0	1,33 aA	2,07 bcA	1,21 aA	1,54 b
Médias para níveis de Sacarose	2,14 b	2,90 a	1,67 b	

CV (%) 35,56

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



O comprimento médio do broto apresentou os maiores valores a partir da concentração de 0,5  $\mu\text{M}$  de ANA quando combinado com 40  $\text{mg L}^{-1}$  de sacarose (tabela 4), os quais proporcionaram os maiores comprimentos dos brotos, não comprometendo o crescimento da parte área.

Tabela 4 Comprimento de brotos (cm) cultivados com diferentes doses de ANA e concentrações de sacarose.

ANA ( $\mu\text{M}$ )	Sacarose ( $\text{mg L}^{-1}$ )			Médias para níveis de ANA
	20	30	40	
0,0	0,63 bA	0,69 bA	0,69 bA	0,67 b
0,5	0,81 abB	0,86 abB	1,49 aA	1,05 a
1,0	1,16 aA	1,30 aA	1,20 aA	1,22 a
5,0	0,77 abA	1,08 abA	1,08 abA	0,98 a
Médias para níveis de Sacarose	0,84 b	0,98 ab	1,11 a	

CV (%) 24,27

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Dados mostraram que para ocorrer o enraizamento de pimenteira-do-reino é necessário o estímulo com o uso de auxinas exógenas, uma vez que esse fitorregulador favorece a indução e o desenvolvimento radicular (GUERRA; NODARI, 2006).

### Conclusão

O uso do regulador de crescimento ANA e sacarose promovem o enraizamento e o crescimento dos brotos *in vitro*. O uso de 5,0  $\mu\text{M}$  de ANA combinado com 20, 30 ou 40  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose, e 1,0  $\mu\text{M}$  de ANA combinado com 20 ou 30  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose proporcionam rizogênese *in vitro* de pimenteira-do-reino nas condições estudadas.

### Referências Bibliográficas

- GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de Biotecnologia – LFDGV/CCA/UFSC**. Florianópolis: Edição da Steinmacher, 2006. 41 p.
- LEMOS, O. F. de; 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 técnicas de biotecnologia**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. 45 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 375).
- MANUAL de segurança e qualidade para a cultura da pimenta-do-reino. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: CampoPAS, 2004. 65 p. il. (Série Qualidade e Segurança dos Alimentos).
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia plantarum**, v. 15, p. 473–497, 1962.
- OLIVEIRA, H. S.; LEMOS, O. F.; MIRANDA, V. S. Auxinas no enraizamento *in vitro* de brotos de *Piper nigrum* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 4., 2009, Aracajú. **Anais**. Aracaju: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas-A, 2009. p. 1.