

*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

CITOCININAS NO CULTIVO *IN VITRO* DE PIMENTEIRA-DO-REINO

Camila Beatriz Lima de Souza¹, Oriel Filgueira de Lemos², Bruna de Oliveira Soares³, Lana Roberta Reis dos Santos⁴

¹Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, Universidade Federal Rural da Amazônia, camila_beatriz@hotmial.com

²Doutor, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, oriel.lemos@embrapa.br

³Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, Universidade Federal Rural da Amazônia; engenheirabruna@hotmial.com

⁴Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, lana.robert@hotmial.com

Resumo: A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é de grande importância para o País, pois além de ser uma cultura geradora de renda, possui grande valor econômico. Atualmente, o Brasil é o quarto maior produtor mundial e o estado do Pará o maior produtor nacional. O presente estudo avaliou o efeito do 6-benzilaminopurina (BAP) e do thidiazuron (TDZ), estes dois fitorreguladores associados com 0,2 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA) na proliferação de brotos e gemas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.), cv. Kottanadan. Utilizou-se o meio MS, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e 2 g L⁻¹ de phytigel, suplementado com diferentes combinações de reguladores de crescimento sendo o pH ajustado para 5,8. Os explantes foram cultivados em condições controladas de cultivo. Os tratamentos foram compostos por cinco repetições com três explantes cada, em DIC. Foram avaliados após seis semanas de cultivo os seguintes parâmetros: número de brotações e número de gemas. Houve diferenciação de brotos e gemas em todos os tratamentos, com destaque para os tratamentos que possuíam doses de 2,0 µM de BAP e 0,2 mg L⁻¹ de AIA e concentrações de 5,0 µM de TDZ e 0,2 mg L⁻¹ de AIA.

Palavras-chave: BAP, Kottanadan, *Piper nigrum* L., TDZ

Introdução

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é de grande importância para o País, pois além de ser uma cultura geradora de renda, possui grande valor econômico (NAIR, 2011). Atualmente o Brasil é o quarto maior produtor mundial e o estado do Pará o maior produtor nacional (IBGE, 2013). Como alternativa para propagação vegetativa em massa de pimenta-do-reino utiliza-se da cultura de tecidos para a propagação em grande escala de genótipos elite e conservação do germoplasma (SARTOR et al., 2012). Para este fim, geralmente são testadas concentrações de citocininas, associado a outros reguladores de crescimento, que comumente estão associados à quebra de dominância apical



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

em gemas axilares e ápices caulinares, com consequente indução de brotações (BHOJWANI e RAZDAN, 1996). Portanto, o objetivo deste trabalho foi o avaliar diferentes doses das citocininas (TDZ e BAP) na indução de brotos e gemas axilares de pimenteira-do-reino.

Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. Foram utilizados explantes da cultivar Kottanadan de pimenteira-do-reino, provenientes do cultivo de sementes *in vitro*. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando segmentos de gemas axilares e apicais introduzidos em frascos contendo 40 mL de meio de cultura básico MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), com 3% de sacarose, vitaminas MS, e suplementado com combinações dos reguladores de crescimento TDZ (Thidiazuron), BAP (6-benzilaminopurina) com uma concentração de AIA (ácido indolacético). As combinações foram as seguintes: Testemunha (sem reguladores de crescimento); 0,5 μM de TDZ + 0,2 mg L^{-1} AIA; 1,0 μM de TDZ + 0,2 mg L^{-1} AIA; 2,0 μM de TDZ + 0,2 mg L^{-1} AIA; 5,0 μM de TDZ + 0,2 mg L^{-1} AIA e 2,0 μM de BPA + 0,2 mg L^{-1} AIA. O meio foi semi-solidificado com 0,2% de phytigel, e o pH ajustado para 5,8. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições com três explantes. O cultivo foi feito em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h luz dia^{-1} , com intensidade de luz de 25 $\mu\text{mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, por um período de cinco semanas. As avaliações realizadas foram quanto ao percentual de formação de calos nos explantes, o número de gemas e o número de brotos por explante. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A análise de variância mostrou que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste F, em relação aos tratamentos utilizando TDZ e BAP para as variáveis analisadas (Tabela 1). O uso de 2,0 μM de BAP associado com 0,2 mg L^{-1} de AIA apresentaram os melhores resultados quantitativos tanto para a proliferação do número de brotos/explante quanto para a variável número de gemas/explante apresentando média de 2,62 brotos e 3,62 gemas por explante, respectivamente. No entanto, o tratamento com adição de 5,0 μM de TDZ e 0,2 μM de AIA apresentou média de 3,44 gemas/explante não diferindo do tratamento com 2,0 μM de BAP e 0,2 μM de AIA. O fornecimento dos fitoreguladores nessas concentrações foi suficiente para balancear o conteúdo endógeno de citocininas



do explante.

Tabela 1: Médias dos números de brotos e gemas por explante nos diferentes tratamentos

Tratamentos (μM)		Nº Brotos/Explante		Nº Gemas/Explante	
AIA (0,2 mg L ⁻¹)	TZD	0,5	1,30 ab	1,78	b
		1,0	1,24 b	1,76	b
		2,0	2,04 ab	2,58	ab
		5,0	1,70 ab	3,44	a
	BAP	2,0	2,62 a	3,62	a
Testemunha		1,66	ab	2,70	ab
CV (%)		39,84		25,07	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os explantes submetidos ao meio de cultura suplementados com TDZ, BAB e AIA apresentaram, na base incisada, massas celulares desorganizadas que se originam da proliferação desordenada a partir de tecidos ou órgãos cultivados *in vitro*, denominados calo (Figura1). Como a indução de calos é dependente de um balanço hormonal intermediário entre auxinas e citocininas, todos os tratamentos resultaram na formação de calos, exceto o tratamento sem adição de reguladores de crescimento. O TDZ é um excelente estimulante para formação de calos em concentrações iguais ou maiores que 1,0 μM em estudos de cultura de tecidos.

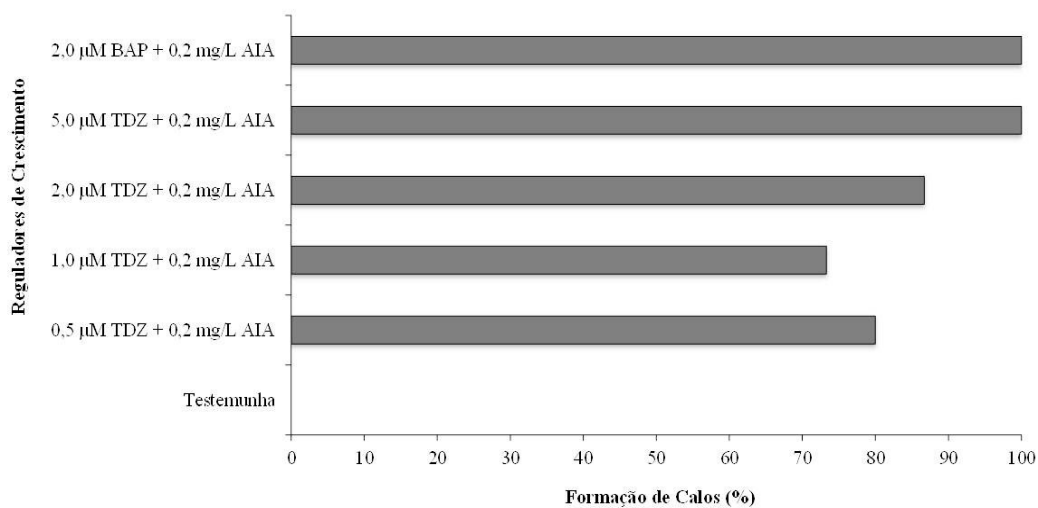


FIGURA 1 Porcentagem de formação de calos em meios contendo diferentes combinações de TDZ ou BAP com 0,2 μM de AIA. Como controle foi usado 0 μM de TDZ + 0 mg/L de AIA (T1).(T2: 0,5 μM de TDZ; T3: 1,0 μM de TDZ; T4: 2,0 μM de TDZ; T5: 5,0 μM de TDZ; T6: 2,0 μM de BPA).



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

Conclusões

Neste estudo, a cultivar Kottanadan apresenta proliferação de brotos e gemas por explante satisfatória em meio de cultura MS com 2,0 μ M de BAP e 0,2 AIA ou 5,0 μ M de TDZ e 0,2 de AIA.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental e ao projeto financiado pela EMBRAPA pela disponibilização dos recursos para a realização da pesquisa e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará (FAPESPA), pela concessão da bolsa de estudo.

Referências Bibliográficas

BHOJWANI, S. S.; RAZDAN, M. K. **Plant tissue culture: theory and practice**, a revised edition. Amsterdam: Elsevier, 1996. 767 p.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola: Sistema de recuperação automática – SIDRA**. 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 jun. 2014.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473–497, 1962.

NAIR, K. P. P. **Agronomy and economy of black pepper and cardamom. The "King" and "Queen" of Spices**. London: Elsevier Science Publishing, 2011. 366 p.

SARTOR, F. R.; MORAES, A. M.; ALMEIDA, F. A. C. Técnicas para criopreservação de gemas de mangabeira. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 3, n. 1, p. 31-39, 2012.