

*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

## **BALANÇO AUXINA/CITOCININA PARA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.)**

Dávia Rosane Rodrigues Leite<sup>1</sup>, Oriel Filgueira de Lemos<sup>2</sup>, Meiciane Ferreira Campelo<sup>3</sup>, Fabricia Kelly Cabral Moraes<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (UFRA). E-mail: [davia.leite@hotmail.com](mailto:davia.leite@hotmail.com)

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. E-mail: [oriel.lemos@embrapa.br](mailto:oriel.lemos@embrapa.br)

<sup>3</sup> Mestranda em Agronomia (UFRA). E-mail: [meicianecampelo@gmail.com.br](mailto:meicianecampelo@gmail.com.br)

<sup>4</sup> Doutoranda em Agronomia (UFRA). E-mail: [fkcabralm@hotmail.com.br](mailto:fkcabralm@hotmail.com.br)

**Resumo:** As técnicas de cultura de tecidos têm sido empregadas de diferentes formas no desenvolvimento de cultivares superiores de plantas, podendo oferecer novas alternativas aos programas de melhoramento em suas diferentes fases. O trabalho consiste na micropropagação da cultivar de pimenta-do-reino Balankota, cujos explantes utilizados foram gemas apicais e axilares inoculadas em meio de cultura Murashige & Skoog (MS), com 3% de sacarose, vitaminas MS, suplementados com diferentes combinações de auxina (AIA) e citocininas (cinetina e BAP) e solidificado com 0,2% de Phytigel. Os explantes foram mantidos em condições controladas de cultivo por 6 semanas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os resultados foram analisados pela ANOVA com teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As avaliações foram quanto ao número de gemas e brotos por explante e grau de oxidação. Concentrações inferiores de cinetina emitiram maiores números de gemas, e todas as combinações apresentaram elevado grau de oxidação e média semelhantes para número de brotos. O balanço Cinetina/AIA promove a diferenciação de novas gemas com destaque para 0,5µM de cinetina e 0,2µM de AIA. Independente do balanço ocorre elevado grau de oxidação dos explantes.

**Palavras-chave:** ácido indolacético, cinetina, cultivar balankota

### **Introdução**

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira pertencente à família Piperaceae sendo a mais importante especiaria comercializada mundialmente, devido a sua importância econômica. É utilizada em larga escala como condimento e para uso farmacêutico. O Brasil é o quarto maior produtor mundial, sendo o Estado do Pará o maior produtor nacional (IBGE, 2013). A cultura de tecidos é uma ferramenta biotecnológica que pode ser utilizada para reduzir o tempo de multiplicação de plantas em larga escala, e para isso, a composição e concentração de reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores importantes na maioria dos sistemas de



regeneração de plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o melhor balanço hormonal entre citocininas e auxina para o desenvolvimento de gemas e brotos da cultivar Balankota de pimenteira-do-reino.

### Material e Métodos

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. A cultivar Balankota foi utilizada como fonte de explante de gemas axilares e apicais de aproximadamente 1 cm, as quais foram inoculadas em 40 mL de meio de cultura básico MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescidos de 3% de sacarose, vitaminas MS e 0,2% de Phytigel. O meio foi suplementado com diferentes combinações de ácido indolacético e de 6-benzilaminopurina, com pH ajustado para 5,8 (tabela1). O cultivo foi mantido por seis semanas com fotoperíodo de 16 h, intensidade luminosa de 3.000 lux e temperatura de  $25 \pm 3$  °C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições cada, representadas por um frasco com 3 explantes. Avaliou-se a porcentagem de oxidação, número de brotos e gemas/explantes por meio de análise de variância e as médias comparadas usando teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 1 – Diferentes combinações de hormônios vegetais utilizadas

Tratamento	Cinetina ( $\mu\text{M}$ )	AIA( $\mu\text{M}$ )
T1	0,0	0,0
T2	0,5	0,2
T3	1,0	0,2
T4	2,0	0,2
T5	5,0	0,2
T6	BAP (2,0 $\mu\text{M}$ )	0,2

BAP – Benzilaminopurina;AIA –Ácido indolacético

### Resultados e Discussão

No trabalho realizado foi possível verificar que, para a variável número de brotos por explante, não ocorreu diferença significativa entre as médias obtidas nas combinações (tratamentos) (Tabela 2). Segundo Skoog E Miller (1957), a proliferação de brotos *in vitro* pode ser maximizada com o emprego de dois ou mais reguladores de crescimento. Entretanto, para a cultivar Balankota de pimenteira-do-reino, o uso combinado de fitorreguladores não resultou em aumento significativo do número de brotações para as condições estudadas.



Em relação ao número de gemas/explante houve diferenças estatísticas significantes entre os tratamentos T2 utilizando 0,5  $\mu\text{M}$  e T5 com 5,0  $\mu\text{M}$  de Cinetina e AIA, que apresentaram os respectivos valores de média 3,08 e 2,12, indicando que concentrações menores de cinetina em conjunto com AIA promovem formação de maior número de gemas/explante. Estudos mostrados por Teixeira e Marbarch (2000) evidenciaram que a aplicação de cinetina pode desencadear a formação de gemas laterais a partir da dominância apical em planta.

Tabela 2 – Análise de variância de número de brotos e gemas de *Piper nigrum* em função das concentrações de cinetina, BAP e AIA.

TRATAMENTO ( $\mu\text{M}$ )		Nº brotos /explante		Nº gemas/explante	
Cinetina	AIA				
0,0	0,0	1,44	a	2,44	ab
0,5	0,2	1,24	a	3,08	a
1,0	0,2	1,24	a	2,26	ab
2,0	0,2	1,42	a	2,54	ab
5,0	0,2	1,28	a	2,12	b
BAP					
2,0	0,2	1,36	a	2,36	ab

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si: Média geral para n° de brotos/explante = 1,31; Coeficiente de variação para esse parâmetro = 24,69. Média geral para n° de gemas/explante = 2,48; Coeficiente de variação para esse parâmetro = 18,59.

Com relação às análises de oxidação, a maior percentagem foi observada no tratamento T4 com 2,0  $\mu\text{M}$  de Cinetina e AIA (73,3%). Todos os tratamentos apresentaram oxidação superior a 50% para grau de oxidação considerado alto (Figura 1). Isto se deve a liberação de compostos fenólicos pela espécie. Segundo Giatti e Lima (2006), a liberação de compostos fenólicos promove o escurecimento do meio e a oxidação de tecidos.

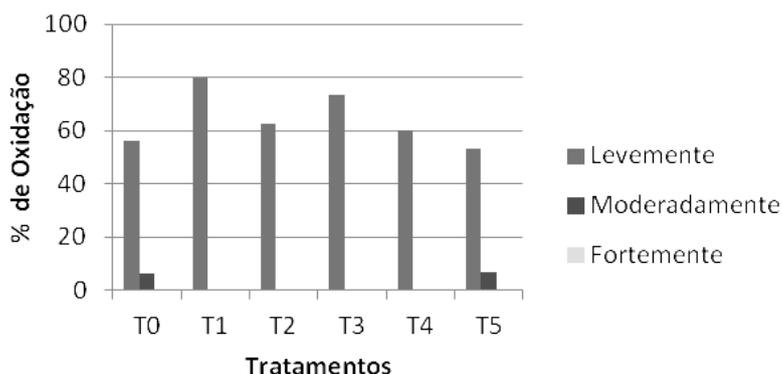


Figura 1-Oxidação de *Piper nigrum* L.. T1 (sem fitoregulador), T2 (0,5  $\mu\text{M}$  KIN), T3 (1,0  $\mu\text{M}$  KIN), T4 (2,0  $\mu\text{M}$  KIN), T5 (5,0  $\mu\text{M}$  KIN), T6 (2,0  $\mu\text{M}$  BAP).



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

### Conclusão

O balanço Cinetina/AIA promove a diferenciação de novas gemas com destaque para 0,5 $\mu$ M de cinetina e 0,2 $\mu$ M de AIA. Independente do balanço ocorre elevado grau de oxidação dos explantes.

### Referências Bibliográficas

GIATTI, L.; LIMA, G. P. P. **Ação do BAP na regeneração *in vitro* de Blc Owen Holmes Ponkan x *Brassavola digbiana* n° 2.** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola:** Sistema de recuperação automática – SIDRA. 2013. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1618&z=t&o=1&i=P>. Acesso em: 10 jun. 2014.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

TEIXEIRA, J. B.; MARBACH, P. A. S. **Fitormônios**, v. 8, n. 1, p. 101-132, 2000.

SKOOG, F.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. **Symposia for Society Experimental Biology**, v. 11, p. 118-131, 1957.