



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

ESTUDO PRELIMINAR DE MICROENXERTIA EM PLANTAS DE PIMENTA-DO-REINO MICROPROPAGADAS

Dayane Nascimento Pena¹; Simone de Miranda Rodrigues², Oriel Filgueira de Lemos³, Ingrid Sales Souza⁴

¹Acadêmica do Curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia; Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental; Email daypena@hotmail.com

²Orientadora/Pesquisadora Dra da Embrapa Amazônia Oriental

³Pesquisador Dr. da Embrapa Amazônia Oriental

⁴Acadêmica do Curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia; Bolsista Pibic/CNPq da Embrapa Amazônia Oriental

Resumo: No Brasil a pimenta-do-reino foi introduzida durante o período colonial, mais se tornou importante comercialmente com a participação japonesa, após a introdução da cultivar Kuching. A fusariose constitui a mais importante das doenças que resulta em danos a pipericultura, pois influencia na produtividade nacional. Para auxiliar o programa de melhoramento genético dessa cultura no CPATU, estratégias biotecnológicas, como a microenxertia, estão sendo empregadas. A microenxertia é uma técnica eficiente para obtenção de material propagativo livre de doenças e com elevada qualidade genética. Esse trabalho teve como objetivo a obtenção de um protocolo de microenxertia *in vitro* para a pimenta-do-reino, utilizando distintas cultivares dessa espécie. Para confecção dos microenxertos foram feitas combinações de porta enxerto e enxerto de cultivares de pimenta-do-reino, as quais foram cultivadas em meio MS. Os microenxertos foram avaliados quanto a intensidade de oxidação da região do pegamento e a viabilidade dos mesmos após seis dias de cultivo. O melhor resultado foi obtido em meio suplementado com estreptomicina, e polivinilpirrolidona adicionando-se β -mercaptoetanol nas regiões dos cortes dos tecidos e esparadrapo tipo durex por um período de uma semana em condição de luz.

Palavras-chaves: cultura de tecidos, microenxertia, *Piper nigrum*

Introdução

No Brasil, a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) vem sendo cultivada desde o século XVII sendo introduzida no país pelos portugueses durante o período colonial, tornando-se mais atraente, sob o ponto de vista comercial, a partir de 1933, quando imigrantes japoneses introduziram a cultivar Kuching. Sua cultura é de grande relevância, por ser um produto de exportação. Essa especiaria é uma planta tropical, típica de clima quente e úmido, ficando suscetível a certas doenças. A produtividade da



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

planta depende do genótipo e da qualidade da muda. Na tentativa de produzir plantas saudáveis, livres de patógenos, a micropropagação associada à microenxertia, é a forma mais viável de produção.

A microenxertia é uma técnica biotecnológica que permite a produção de material vegetal com qualidade fitossanitária em mudas produzidas *in vitro*. Todavia, está sendo aplicada em pimenta-do-reino, no laboratório de Biotecnologia da Embrapa CPATU, com as cultivares Balankota, Guajarina, Cingapura, Alencar e Kotanadan, visando obter plântulas saudáveis e resistentes aos patógenos do solo. Por esse motivo, a partir do estabelecimento de um protocolo inicial de microenxertia para essa espécie, essa técnica será usada juntamente com piperáceas nativas, resistentes ao *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, como porta enxerto de pimenta-do-reino. Para alcançar a meta de ter material livre de patógenos e viroses é necessário que haja preparação do porta enxerto; preparação do enxerto; enxertia; desenvolvimento *in vitro* das plantas enxertadas, e transferência das plantas para o solo (Navarro, 1988). O sucesso da microenxertia depende dentre outros fatores, do pré-tratamento (fitorreguladores), com o objetivo de acelerar a cicatrização dos tecidos no ponto de enxertia, resultando em maior sobrevivência dos mesmos. Essa pesquisa se concentrou no desenvolvimento de estudos preliminares para a obtenção de um protocolo de microenxertia para essa espécie vegetal, como mais uma estratégia biotecnológica que poderá ser usada para dar suporte ao atual programa de melhoramento genético da pimenteira-do-reino, visando reduzindo perdas provocadas por doenças que afetam a produtividade da planta.

Material e Métodos

Frutos maduros foram coletados das variedades: Balankota, Cingapura, Guajarina, Alencar e Kotanadan, no BAG de pimenta-do-reino da Embrapa Amazônia Oriental e de áreas produtoras do Município de Tomé-Açu, PA, para a montagem dos experimentos. Primeiramente, os frutos foram tratados, visando reduzir contaminações antes da inoculação *in vitro* das sementes. Esse tratamento consistiu de desinfestação, despulpamento dos frutos e assepsia das sementes.

As sementes foram inoculadas individualmente, em tubos de ensaio de 10x2 cm contendo 10 mL de meio MS (Murashige e Skoog, 1962) autoclavado, constituído de sais e vitaminas MS, 3% (p/v) de sacarose, pH $5,8 \pm 0,1$ antes da autoclavagem, e solidificado com 0,8% (p/v) de ágar. Depois de serem inoculadas, as sementes foram colocadas para germinar em ambientes controlados, durante um período de 3 meses antes da utilização das plântulas para a confecção dos microenxertos. Para esse estudo foram feitos 6 combinações de enxerto e porta enxerto: Cingapura x Balankota, Balankota x Guajarina,



Guajarina x Cingapura, Guajarina x Kotanadam, Alencar x Balankota e Balankota x Cingapura.

Nas plântulas germinadas das variedades acima, foram retiradas as partes foliares e radiculares. As plântulas que serviram como porta enxerto sofreu um corte no sentido horizontal nos hipocótilos, e as que foram usadas como copa sofreu um corte em bisel. Depois de feitos os cortes, em ambas as cultivares, adicionou-se, na região dos cortes, gotas de antioxidantes por 20 seg, previamente autoclavados, visando reduzir as oxidações dos tecidos nessa região. Depois de obtido os microenxertos, colocaram-se ao redor da lesão fita adesiva para juntar as duas partes das plântulas. Em seguida, introduziu-se 1 microenxerto por tubo de ensaio. Todos os microenxertos foram colocados em sala de crescimento consistindo de fotoperíodo luminoso de 16 h e irradiância de $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Os microenxertos foram avaliados, quanto à oxidação e viabilidade dos mesmos, sendo os resultados apresentados em forma de porcentagens.

Para a obtenção os estudos de obtenção dos microenxertos, foram considerados os seguintes tratamentos:

Tratamento 1 – cultivo dos microenxertos em meio MS, e adição de ácidos ascórbico e cítrico, 150 mg.L^{-1} cada, nas regiões dos cortes dos tecidos vegetais. A região de pegamento foi selada com esparadrapo tipo durex por um período de 1 mês em condições de luz.

Tratamento 2 - cultivo dos microenxertos em meio MS contendo sulfato de estreptomicina 100 mg.L^{-1} , e adição de ácidos ascórbico e cítrico nas região dos cortes, 150 mg.L^{-1} cada. A região de pegamento foi selada com esparadrapo tipo durex por um período de 1 mês em condições de luz.

Tratamento 3 - cultivo dos microenxertos em meio MS contendo estreptomicina 100 mg.L^{-1} , polivinilpirrolidona 2 g.L^{-1} , e adição de β -mercaptoetanol 0,04% (v/v) nas regiões dos cortes dos tecidos. A região de pegamento foi selada com o esparadrapo do tipo durex por um período de uma semana em condições de luz.

Resultados e Discussão

Após a inoculação de 10 microenxertos para cada tratamento, totalizando 30 microenxertos, os resultados foram avaliados depois de seis dias de cultivo. No tratamento T1, não se obteve microenxertos viáveis, devido à dificuldade na confecção dos microenxertos (Tabela 1). Em relação à oxidação, foi observado que 100% dos microenxertos oxidaram na região de pegamento, com adição ácido ascórbico e ácido cítrico. No tratamento T2, observaram-se os melhores resultados com relação à viabilidade dos microenxertos, obtendo-se 50% de microenxertos viáveis e com oxidação de 70% de



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

todos os microenxertos confeccionados (Tabela 1), sendo considerada alta a oxidação na região do pegamento com uso de ácidos ascórbico e cítrico; enquanto o tratamento T3 obteve-se 40% de viabilidade do microenxertos, e 70% de oxidação da região de pegamento. Nesse último tratamento, foi observada oxidação moderada, provavelmente devido à adição de PVP no meio MS e o uso de β -mercaptoetanol nas regiões dos cortes, ao invés das soluções de ácidos cítrico e ascórbico, mostrando-se como o melhor resultado até o momento.

Tabela 1 Efeito dos tratamentos no desenvolvimento da copa e oxidação da região de pegamento dos microenxertos de pimenta.

Tratamentos	Nº de microenxertos viáveis	Oxidação da região de pegamento
T1	0%	100%
T2	50%	70%
T3	40%	70%

T1 (meio MS, uso de soluções de ácidos ascórbico e cítrico, nas regiões dos cortes dos tecidos vegetais, e uso de esparadrapo ou um período de 1 mês).

T2 (meio MS contendo sulfato de estreptomicina, uso de soluções de ácidos ascórbico e cítrico, nas regiões dos cortes, e uso de esparadrapo por um período de 1 mês).

T3 (meio MS contendo estreptomicina e polivinilpirrolidona, uso de β -mercaptoetanol nas regiões dos cortes dos tecidos, e esparadrapo por um período de uma semana).

Conclusão

Os resultados mostraram a possibilidade de obtenção de microenxertos para a pimenta-do-reino, tornando mais uma opção biotecnológica para dar suporte ao programa de melhoramento genético dessa espécie. Nesse trabalho, os melhores resultados foram obtidos em meio suplementado com estreptomicina e polivinilpirrolidona, uso de β -mercaptoetanol nas regiões dos cortes dos tecidos e esparadrapo tipo durex por um período de uma semana em condição de luz.

Referências Bibliográficas

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarem**, v.15, p 473-497, 1962.

NAVARRO, L. Application so shoot-tip grafting *in vitro* to woody species. **Acta Horticulturae**, Wageningen,v.227,p.4355,1988.Disponívelem:http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=10666. Acesso em: 8 jun. 2010.