

DIFERENTES REPOSTAS NA PROLIFERAÇÃO DE CALOS DE PIMENTA-DO-REINO

Thália do Socorro Serra GAMA¹; Oriel Figueira de LEMOS²; Hérica Santos de OLIVEIRA³;

Resumo

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira originária da Índia. É uma especiaria comercializada mundialmente que tem grande importância para o estado do Pará, pois é o maior produtor e exportador brasileiro da cultura. Considerando os graves problemas de doenças, técnicas modernas de biologia celular têm sido desenvolvidas visando auxiliar os programas de melhoramento genético que buscam aumentar a produtividade desta cultura, gerar mudas sadias, livres de doenças e tornar o setor agrícola mais competitivo. Este trabalho visou aplicar as técnicas de cultura de tecidos para indução de calos visando o estabelecimento de protocolos para futuros trabalhos de transgenia. A pesquisa experimental ocorreu a partir de embriões zigóticos de quatro cultivares de pimenta-do-reino para indução de calos. O meio de cultura de indução de calos foi o SH, suplementado com inositol e diferentes concentrações de Giberilina e 2,4 D. A cultivar Karimunda foi a que mais se destacou, com relação ao desenvolvimento dos calos de pimenta-do-reino.

Palavras-chave: Cultura de tecidos, pimenta-do-reino, calos.

Área do conhecimento: Área: Ciências agrárias, subárea: Biotecnologia vegetal, Linha de pesquisa: micropropagação

Introdução

A pimenta-do-reino é uma planta pertencente à família das Piperáceas e tem um grande valor para o país, tanto econômico, quanto cultural.

O Pará tornou-se o maior produtor e exportador brasileiro da cultura. Porém há a ocorrência de doenças severas, entre as quais a fusariose, provocada por *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, que tem reflexo na produtividade, pois reduz o tempo de vida útil dos pimentais e diminui o ciclo de produção, gerando aumento dos custos de produção (Albuquerque,).

Para compensar economicamente o produto final de exportação, é necessário desenvolver tecnologias que visem o aumento da produtividade. Dessa forma, a aplicação de técnicas de cultura de tecidos, como a micropropagação e regeneração de plantas via calos são importantes instrumentos tanto para a multiplicação em larga escala de mudas sadias e livres de doenças quanto para o desenvolvimento do processo de transgenia. A micropropagação garante a clonagem de plantas selecionadas com vantagens agrônomicas dentro dos programas de melhoramento da cultura enquanto a regeneração de plantas via calos permite que genes de interesse possam ser transferidos para as cultivares em uso sem alterar suas características produtivas. O objetivo deste trabalho foi estabelecer a primeira fase do processo de regeneração de plantas a partir da indução de calos em

¹ Acadêmica do Curso de Licenciatura Plena em Ciências Naturais - Biologia da Universidade do Estado do Pará; Bolsista do PIBIC-CNPq/MPEG; E-mail: thaliagama@gmail.com

² Doutor da Embrapa Amazônia Oriental; Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/nº Caixa Postal, 48, Belém, PA - Brasil CEP 66095-100; E-mail: oriel@cpatu.embrapa.br.

³ Mestranda em Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia; E-mail: hericaeng@hotmail.com

diferentes cultivares de pimenteira-do-reino.

Material e Métodos

A pesquisa iniciou com quatro cultivares de pimenta-do-reino, quais sejam: Bragantina, Guajarina, laçará e Karimunda. As etapas experimentais foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias – Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará e constituiu-se da proliferação de calos e dois subcultivos.

Em câmara de fluxo laminar os calos induzidos em meio SH e foram seccionados e transferidos para frascos contendo 40 mL de meio de cultura. Foram realizados quatro subcultivos, todos contendo meio SH (Shenk and Hildebrandt, 1972) e ainda suplementados com as combinações e dosagens dos reguladores de crescimento.

Para a realização dos dois primeiros subcultivos seis tratamentos foram adotados, compostos por três concentrações de Giberilina (GA_3) e duas de 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D): G1: $0\mu M$ de GA_3 + $10\mu M$ de 2,4D; G2: $1\mu M$ de GA_3 + $10\mu M$ de 2,4D; G3: $5\mu M$ de GA_3 + $10\mu M$ de 2,4D; G4: $0\mu M$ de GA_3 + $20\mu M$ de 2,4D; G5: $1\mu M$ de GA_3 + $20\mu M$ de 2,4D; G6: $5\mu M$ de GA_3 + $20\mu M$ de 2,4D.

Todos os meios utilizados foram suplementados com 3% de sacarose, 0,2% de phytigel, 1g/L de inositol e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a $121^\circ C$ e cultivados no escuro, temperatura de $25\pm 3^\circ C$.

Para a obtenção dos resultados foram realizadas algumas avaliações,

quantitativa e qualitativa levando-se em consideração alguns critérios: sem desenvolvimento, desenvolvimento médio (até 3 cm) e desenvolvimento abundante (4 a 6 cm).

Os resultados do primeiro subcultivo foram obtidos após 16 semanas e os do segundo após 9 semanas. Os dados foram submetidos à análise de variância

Resultados e Discussão

Quando submetidas aos tratamentos estabelecidos, as cultivares mostraram respostas em relação ao crescimento dos calos. A cultivar Bragantina, após o primeiro subcultivo apresentou desenvolvimento abundante na maioria dos tratamentos. No segundo subcultivo a mesma passou a mostrar desenvolvimento médio dos mesmos. (Figura 1)

A cultivar laçará, no primeiro e segundo subcultivos, obteve desenvolvimento médio em, praticamente, todos os tratamentos, a exceção foi no tratamento G4 para o segundo subcultivo, pois não houve crescimento (Figura 2).

A cultivar Guajarina apresentou desenvolvimento médio em todos os tratamentos realizados no primeiro e segundo subcultivos. Karimunda, primeiramente, mostrou respostas diferentes aos tratamentos, variando entre desenvolvimento médio e abundante. Posteriormente, houve variação, predominando o desenvolvimento médio nos tratamentos G2, G4, G5 e G6.

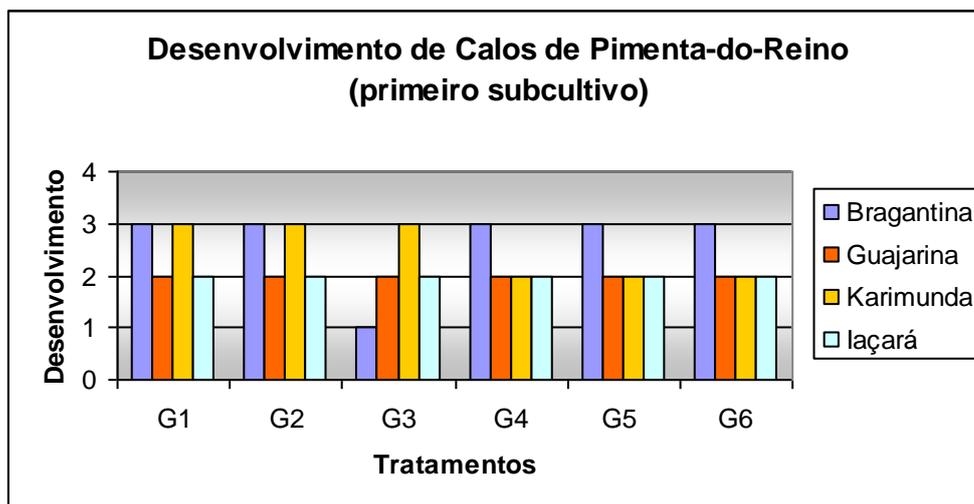


Figura 1. Desenvolvimento de calos durante o primeiro subcultivo submetido a diferentes tratamentos, 2009.

De acordo com Cerqueira *et al.* (2002) O 2,4-D normalmente é um regulador de crescimento mais empregado para indução de calos. Mas para *Tridax procumbens* L., o 2,4-D, nas concentrações usadas: 1,0; 2,0 e 4,0mg/L, mostrou-se menos eficiente na indução de biomassa fresca. Enquanto que neste trabalho não houve grande

variação quanto às concentrações de 2,4 D.

Ferreira *et. al* (2004) mostra que quando acrescentou 2,4-D e cinetina em seu meio MS houve indução da parte aérea em alguns explantes e formação de calos pequenos, que com o tempo cessavam o desenvolvimento, como visto neste experimento para a cultivar Bragantina.

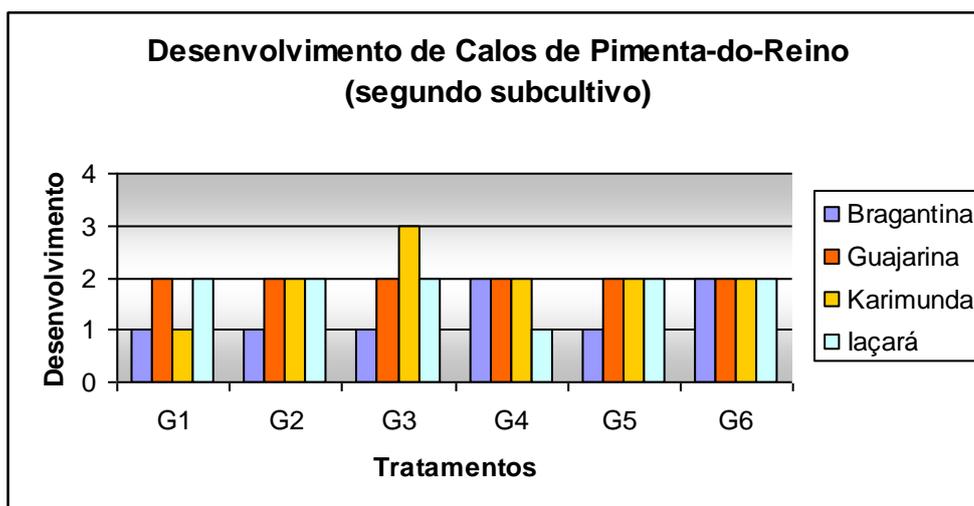


Figura 2. Desenvolvimento de calos durante o segundo subcultivo submetido a diferentes tratamentos, 2009.

Quanto à perda de material *in vitro*, houve contaminação por bactérias e por fungos. As análises realizadas após os dois subcultivos demonstraram que a cultivar Karimunda foi a que mais

sofreu contaminação por fungo dentre todas, e Guajarina por bactéria, 60% (Tabela 1). Alguns trabalhos relatam a ocorrência de bactérias e fungos endógenos em tecidos de pimenteira-

do-reino, o que requer o controle para respostas *in vitro*.

Tabela 1. Percentagem de contaminação nos tratamentos de indução de calos de pimenta-do-reino, 2009.

Cultivar	G1		G2		G3		G4		G5		G6	
	Fun.	Bac.										
Bragantina	-	20	40	-	-	-	20	-	-	20	20	-
Guajarina	60	-	40	-	40	20	40	20	60	-	80	20
Karimunda	100	-	60	-	60	-	60	-	60	20	60	20
laçará	-	40	20	-	-	-	40	-	40	-	40	-

Fun. = Fungo
Bac. = Bactéria

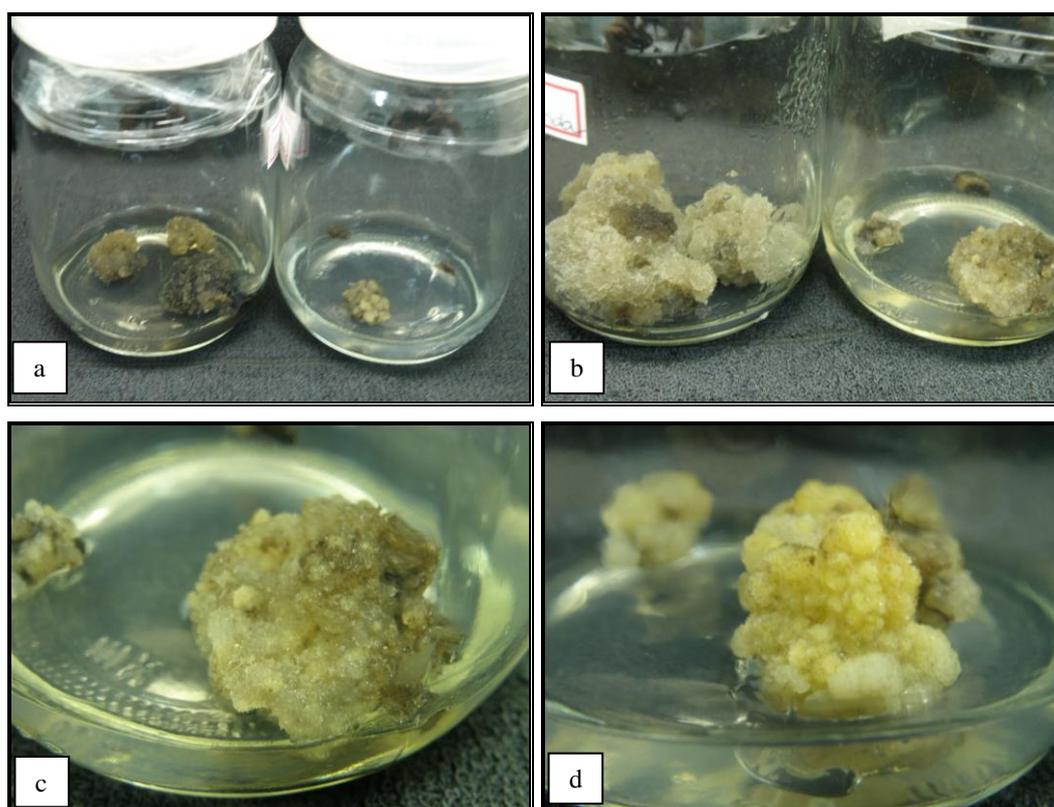


Figura 3: Fotos dos calos de algumas cultivares. a: cultivar Bragantina; b: cultivar Karimunda; c: Cultivar karimuda, calo em detalhe; d: Cultivar Guajarina, calo em detalhe.

Conclusões

Os tratamentos mais promissores para a proliferação de calos neste experimento foram o G2 e o G3, que são constituídos por 1µM de GA3+10µM de 2,4D e 5µM de GA3+20µM de 2,4D, respectivamente.

As maiores perdas aconteceram por fungos. Karimunda foi a cultivar mais acometida, tanto por fungos e por bactérias e a Bragantina foi a que sofreu menor contaminação.

Agradecimentos

À Embrapa – Amazônia Oriental e a todos os colaboradores deste trabalho.

Referências

BECKER, L. **Propagação vegetativa *in vivo* e *in vitro*, indução de calos, nutrição, extração e quantificação de alcalóides nas espécies *Phyllanthus niruri* L. e *Phyllanthus corcovadensis* Muell. Arg. (Quebra-pedras).**1997. 96f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CERQUEIRA, E. S.; PINTO, J. E. B. P.; MORAIS, A. R.; CASTRO, N. E. A.; CARDOSO, M. G.; LAMEIRA, O. A. **Indução de calos em Erva-de-Touro (*Tridax procumbens* L.) utilizando diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes.** Ciênc. agrotec., Lavras, v.26, n.2, p.301-308, mar./abr., 2002

FERREIRA, M. G. R.; CÁRDENAS, F. E. N.; CARVALHO, C. H. S. de; CARNEIRO, A. A. DAMIÃO FILHO, C. F. **INDUÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS EM EXPLANTES DE CUPUAÇUZEIRO.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 26, n. 2, p. 372-374, Agosto 2004

LEMOS, O. F. de. **Mutagênese *in vitro* no melhoramento genético da pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.).** Tese de doutorado. Piracicaba - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 191p. 2003.

OLIVEIRA, H. S. de; LEMOS, O. F. de; SOUZA, C. R. B. de; MENEZES, I. C. de. **Produção de plantas *in vitro* para adaptação de protocolos de micropropagação para diferentes cultivares de pimenteira-do-reino.** In: II Seminário de Iniciação Científica da Ufra

e VIII Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental. 2004.

OLIVEIRA, H. S. de; LEMOS, O. F. de. **Ajustes, adaptação e desenvolvimento do processo de micropropagação em espécies de pimenta nativas da Amazônia e cultivares de *Piper nigrum* L.** In: III Seminário de Iniciação Científica da Ufra e IX Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental. 2005

SCHENCK, R. U.; HILDEBRANDT, A. C. **Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures.** *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 50, p. 199-204, 1972.