Enraizamento in vitro e Aclimatização em Vermiculita de Pimenteira-do Reino (*Piper nigrum* L.)

Sergio Augusto Oliveira Alves[1], Joseane Nazaré de Oliveira Cardoso[2], Hérica Santos de Oliveira[2] e Oriel Filgueira de Lemos[3], Cândido Ferreira da Oliveira Neto[4],Allan Klinger da Silva Lobato[2], Patrícia Surama Parise Maia[4] e Leila Márcia Souza do Amaral[5]

Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores mundiais de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L), sendo o estado do Pará o principal produtor nacional, com cerca de 90% da produção. Entretanto a produção decresceu a menos de 22.000 toneladas em 2003, devido entre outros fatores à queda do preço no mercado internacional, aos elevados custos de produção e principalmente devido a ocorrência da doença Fusariose que dizima plantações e reduz o ciclo econômico produtivo da cultura [1].

Segundo [2] Todas as cultivares de pimenta-do-reino indicadas para plantio são susceptíveis a fusariose e a forma de propagação vegetativa através de estacas contaminadas se constitui um meio de disseminação da doença. A revitalização de plantas matrizes das principais cultivares indicadas através da produção de mudas de alta qualidade via cultura de tecidos fornecerá estacas sadias e proverá mudas livres de agentes patogênicos, adequadas para formação de novas plantações [1].

Este trabalho teve por objetivo avaliar a melhor concentração de AIB e o uso do carvão ativado para o enraizamento *in vitro* na pimenta-do-reino e sua influencia na aclimatação

Material e métodos

O experimento foi executado no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa - CPATU. Nesta fase do processo de micropropagação, sem passagem pela fase de alongamento,foram realizados 5 Tratamentos, quais sejam: T1(0,0 mg. L^{-1} de IBA),T2 (0,1 mg. L^{-1} de IBA); T3(0,25 mg. L^{-1} de IBA);T4 (0,5 mg. L^{-1} de IBA) e T5 (apenas carvão ativado a 0,2%), totalizando 14 repetições por tratamento, contendo cinco gemas cada frasco. Usou-se o meio básico de cultura ½ MS com 3% sacarose P.A., com exceção do tratamento correspondente ao carvão ativado, desenvolvido em meio MS[3] completo a 50 ml por frasco.O agente gelificante utilizado foi o phytagel a 0,2%

O material foi cultivado em sala de crescimento por aproximadamente 8 semanas. As avaliações foram realizadas quanto ao número e ao comprimento da raiz, comprimento do caule, como também observações sobre a espessura das raízes. Sendo que esse material vegetal ao ser retirado do frasco foi lavado em água corrente e medido com o auxílio de uma régua comum.Após isso,as plântulas foram imersas em solução de benlate 0,2 % por 20 minutos e transferidos para bandejas de plástico com 24 células cada, comportando duas plantas por célula e aclimatadas sob condições ambientais de alta umidade com sistema de irrigação, por nebulização, as plantas foram nutridas semanalmente através de solução com sais MS completo na proporção de 30 ml por célula, por um período de seis semanas e meia. Através de avaliação visual constatou-se a eficácia das diferentes concentrações de AIB (0,0; 0,1; 0,25 e 0,5 mg.L-1) e carvão ativado a 0,2% (trabalhados no experimento de enraizamento), quanto ao melhor desenvolvimento proporcionado às plantas tanto no que se referiu a altura das plantas, o tamanho das folhas e o índice de sobrevivência das plantas no substrato vermiculita.

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado através da analise de variâncias e teste de Tukey de comparação de médias, considerando a média por frasco em cada tratamento, havendo transformação dos dados de percentagens por $\sqrt{x+0,5}$.

Resultados

A média do número de raízes variou de 1,44 a 1,77, sendo que a média do número de raízes foi 1,50. Em relação ao número de raízes os melhores tratamentos foram os meios que utilizaram (0,5 mg. L^{-1} e 0,25 mg. L^{-1} de IBA seguidos de 0,2% de carvão ativado) como mostra a Tab.1. Já o comprimento de raízes a média variou de 1,34 a 2,30, sendo que a média do comprimento foi de 1,97. Os melhores resultados para o comprimento de raízes foi o meio que continha 0,5 mg.L^{-1} de IBA não diferindo significativamente a nível de 5% de probabilidade dos meios que continham 0,25 e 0,1 mg.L^{-1} de IBA.Já a média do comprimento do caule variou de 2,35 a 2,49 , sendo que a média foi de 2,42 Diferentemente dos outros aspectos analisados, no comprimento do caule não houve diferenças significativas em nenhum dos tratamentos analisados.

1.Biólogo e Mestre em Botânica Tropical do Museu Paraense Emilio Goeldi. Av. Perimetral, 1901 -Terra Firme. CEP: 66077-530. E-mail: sergioagrobio@ig.com.br

2. Graduanda do 8º semestre de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia.Av. Perimetral, 2501 -Terra Firme.

3. Pesquisadores da EMBRAPA/CPATU, Pavilhão de Pesquisa. Travessa Enéas Pinheiro S/N,Belém,Pará.

4. Mestrando em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves,2501,Terra Firme, Belém-PA, CEP 66077-530

5- Engenheiro Agrônomo. EMBRAPA/CPATU, Pavilhão de Pesquisa. Travessa Enéas Pinheiro S/N,Belém,Pará.

Apoio financeiro: CNPq e EMBRAPA/CPATU.

No processo de aclimatização de plantas provenientes do experimento de enraizamento (AIB 0,0; 0,1; 0,25; 0.5 $mg.L^{-1}$ e carvão ativado 0,2 %) as plantas originadas em meio de cultura suplementado com 0,1 $mg.L^{-1}$ 0,5 e 0,25 $mg.L^{-1}$ de IBA apresentaram melhor desenvolvimento em altura e tamanho das folhas. As plantas do tratamento testemunha (0,0 IBA) apresentaram desenvolvimento inferior àquelas de 0,1; 0,25 e 0,5 $mg.L^{-1}$ IBA, mas relativamente melhor que de carvão ativado, apesar de apresentar semelhanças quanto ao desenvolvimento em altura. Quanto à sobrevivência das plantas na fase de aclimatização houve 100% de sobrevivência. Fig. 1.

Discussão

Segundo [1] a enraizamento *in vitro* possui como vantagem o melhor controle das condições em que se trabalha e, com isso, a obtenção de um alto percentual de enraizamento. Em geral, os melhores resultados foram obtidos na medida em que se aumentava a concentração de IBA. Segundo [4] as concentrações mais utilizadas para o enraizamento *in vitro* é de 0,5 $mg.L^{-1}$, onde se obtem resultados satisfatórios na maioria das culturas.É importante salientar que a concentração IBA(0,25 $mg.L^{-1}$) obteve resultados semelhantes mesmo em uma concentração menor, segundo [5], esse fator pode ser explicado pelo balanço de reguladores de crescimento (internos e externos), principalmente nas fases iniciais da indução da formação das raízes. Algumas espécies, contudo, já possuem um nível endógeno de fitormônios suficiente e só enraízam na ausência de qualquer tipo de regulador. A importância da auxina também ficou evidenciada quando se compara os meios com AIB e sem IBA, pois esses foram inferiores em todos os aspectos analisados com exceção ao comprimento do caule. Dentre os tratamentos, em carvão ativado as raízes foram mais finas, pois segundo Teixeira o carvão ativado pode incorporar por adsorção substancias presentes no meio de cultura, diminuindo dessa forma a absorção desses compostos pela plântula *in vitro* fazendo com que as raízes não se desenvolvam muito.

Embora tenha havido diferenças significativas nos tratamentos analisados na fase de enraizamentos, estas não foram suficiente para alterar os seus respectivos desempenho na aclimatação.

Portanto, a concentração de IBA recomendado para o enraizamento de *Piper nigrum* L é de 0,25 $mg.L^{-1}$,pois com esta concentração foi possível alcançar desempenho semelhantes aos obtidos pela concentração de 0,5 $mg.L^{-1}$,sem que houvesse diferenças significativas a nível de 5% de probabilidade.A utilização de 0,25 $mg.L^{-1}$ de IBA representa um custo menor no final do tratamento, sem alterar o produto final,ou seja, a muda.

Referências

[1] LEMOS, O. F. de. 2003. 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.

[2] DUARTE, M. de L. R. 1999. *Doenças de plantas no trópico úmido Brasileiro* **.** I plantas industriais. Belém. Embrapa Amazônia Oriental,. 269p.

[3] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised Medium for rapid growth and biossays with Tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, v.15, p. 473-497.

[4] SOARES, A. S.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O.; SANTANA, J. R. F.; PAIVA, L V. 2001; Enraizamento, In: Cultura de tecidos.UFLA, Lavras, MG 6:58-63

[5] TEIXEIRA, J.B.; SONDAHL, M.R.; KIRBY, E.G. 1993. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of oil palm. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, v.34, p. 227-233

Tabela 1- Diferenciação de raízes e desenvolvimento caulinar a partir de gemas cultivadas em meio básico de cultura ½ MS suplementado com AIB à diferentes concentrações e meio MS inteiro, na presença de Carvão Ativado (C.A.).

TRATAMENTOS	RAIZ(No)	RAIZ (cm)	Caule (cm)
AIB = 0,0 mg. L^{-1}	1,14C	1,34 C	2,43 A
AIB = 0,1 mg. L^{-1}	1,44 B	2,04 AB	2,38A
AIB = 0,25 mg. L^{-1}	1,54 AB	2,26 AB	2,49A
AIB = 0,5 mg. L^{-1}	1,77 A	2,30 A	2,45A
C. A. 0,2 %	1,62 AB	1,91 B	2,35 A

Medias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey ($p < 0,05$).

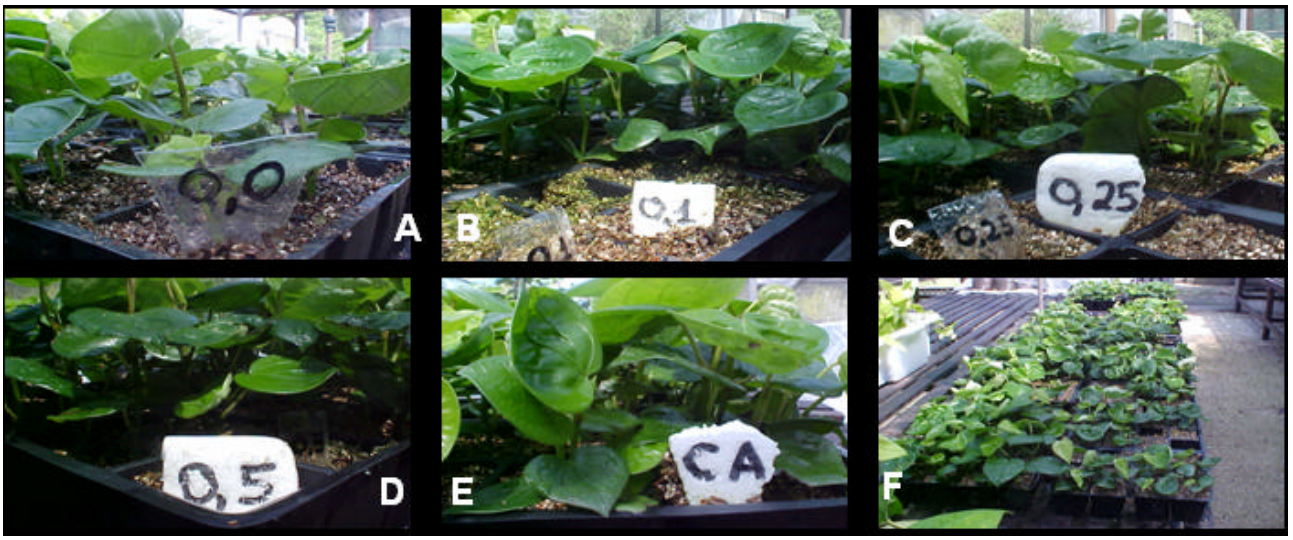

Figura 1 – Plântulas de *Piper nigrum* L na fase de aclimatação em vermiculita. A) Plântulas oriundas de meio MS com 0,0 mg. L^{-1} de IBA. B) Plântulas oriundas meio MS com 0,1 mg. L^{-1} de IBA. C) Plântulas oriundas meio MS com 0,25 mg. L^{-1} de IBA. D) Plântulas oriundas meio MS com 0,5 mg. L^{-1} de IBA. E) Plântulas oriundas meio ½ MS com 0,2% de carvão ativado. F)Plântulas de todos os tratamentos aclimatizadas.