



16^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
16 e 17 de agosto de 2012
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

EFEITO DO TDZ (thidiazuron) NA INDUÇÃO DE GEMAS EM DUAS CULTIVARES DE PIMENTEIRA-DO-REINO

Leozina de Carvalho da Costa¹; Oriel Filgueira de Lemos²; Ariane Souza da Silva³; Lana Roberta Reis dos Santos⁴

¹Universidade Federal do Pará. leozinacosta@yahoo.com.br;

²Embrapa Amazônia Oriental. oriel@cpatu.embrapa.br;

³Universidade Federal Rural da Amazônia. ariane.agronomia@hotmail.com;

⁴Universidade Federal Rural da Amazônia. lanarobert@hotmail.com;

RESUMO : A pimenta-do-reino, produto bastante usado na culinária e indústria alimentícia tem grande importância econômica para o Brasil e o Pará, sendo uma cultura típica de agricultores familiares. Doenças provocadas pelos vírus *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), *Piper Yellow Mottle Virus* (PYMoV) tem reduzido o ciclo produtivo e elevado os custos. Assim, a cultura de tecidos via meristema é uma forma de propagar plantas saudáveis e vigorosas. O objetivo desse trabalho foi testar o efeito de TDZ (thidiazuron) na indução de brotos de cultivares de pimenta-do-reino, a partir de explantes provenientes do estabelecimento e cultivo de meristemas. A cultura foi estabelecida em meio básico MS completo, suplementado com sacarose a 3%, BAP (6-benzilaminopurina) a 0,5 mg.L⁻¹, combinado com TDZ (thidiazuron) em diferentes concentrações e solidificado com phytigel a 0,2%. Avaliou-se as taxas médias do comprimento (cm) de brotos e de gemas por explante em dois subcultivos. A cultivar Bragantina apresentou comprimento de brotos por explante que variou de 1,87 a 3,68 cm e de 2,16 a 3,59 gemas por explante, enquanto a cultivar Kuthiravally 1,00 a 1,95 cm e gemas por explante de 1,20 a 3,35. Houve pouca influência significativa do uso do TDZ em combinação com BAP a 0,5 mgL⁻¹ e a taxa de gemas após os dois subcultivos variou 3,48 a 9,96 para Bragantina e de 2,40 a 5,74 para Kuthiravally. O meio básico de cultura MS com 0,5 mgL⁻¹ de BAP proporciona satisfatória diferenciação de gemas na fase de multiplicação do processo de micropropagação das cultivares de pimenta-do-reino, Bragantina e Kuthiravally.

Palavras-chave: brotação, cultura de tecidos vegetais, micropropagação, *Piper nigrum* L.

Introdução

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira originária da Índia que foi introduzida no Brasil. O seu produto apresenta um alto valor econômico sendo bastante utilizado na culinária de diversos países. No entanto, doenças como a fusariose causada pelo fungo *Fusarium*



16^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
16 e 17 de agosto de 2012
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

solani f. sp. *Piperis* e viróses provocadas pelos vírus *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), *Piper Yellow Mottle Virus* (PYMoV) tem sido a principal causa da redução na produção e elevação do custo da produção de pimenta-do-reino no Brasil. Como não há cultivares comerciais resistentes, nem tratamento químico eficaz, técnicas de cultura de tecidos *in vitro* tem sido aplicada por meio da micropropagação visando a multiplicação de materiais superiores e a obtenção de plantas saudáveis de diferentes cultivares de pimenteira-do-reino (Moura *et al.*, 2008). A obtenção de quantidades suficientes de plantas para a comercialização é demorada, no entanto, com a cultura de tecidos o tempo pode ser reduzido e para isso, a composição e concentração de reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores importantes na maioria dos sistemas de cultura de tecido. O trabalho teve como objetivo testar o efeito da adição de diferentes concentrações de citocininas TDZ (thidiazuron) em combinação com BAP (6-benzilaminopurina) na indução de brotos de cultivares de pimenteira-do-reino, a partir de explantes provenientes do cultivo de meristemas.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. O experimento constou de 5 tratamentos (T) definidos como: T1, T2, T3, T4, T5 e mais a testemunha To. Foi testado o fitorregulador (BAP (6-benzilaminopurina) associado a diferentes concentrações de TDZ (thidiazuron 0 a 0,05 mgL⁻¹). Foram utilizados explantes de cultivares de pimenteira-do-reino, Bragantina e Kuthiravally provenientes do cultivo de meristemas *in vitro*. Apenas os segmentos contendo as gemas axilares, foram introduzidos em frascos totalizando 5 repetições por cada tratamento, com 5 explantes cada uma das repetições, cada frasco com 40 ml de meio de cultura básico MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com sacarose a 3%, BAP (6-benzilaminopurina) a 0,5 mg. L⁻¹, combinado com TDZ (thidiazuron) em diferentes concentrações sendo: 0,01 mg. L⁻¹ para T1; 0,02 mg. L⁻¹ para T2; 0,03 mg. L⁻¹ para T3; 0,04 mg. L⁻¹ para T4; 0,05 mg. L⁻¹ para T5 e To não apresentando TDZ, e solidificado com phytigel a 0,2%. Os explantes em cultura foram mantidos em sala com condições controladas, fotoperíodo de 16 h luz.dia⁻¹, com intensidade de luz de 25 μmol.cm⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 3° C. Foram realizados dois subcultivos a cada oito semanas. Avaliou-se, as taxas médias do número de brotos, do comprimento dos brotos e do número de gemas por explante. Os resultados foram submetidos à análise de variância através do programa SISVAR e teste de comparação de média pelo teste Tuckey a 5% de probabilidade.



Resultados e Discussão

Os resultados para as taxas médias de comprimento (cm) de brotos e número de gemas por explante para a cultivar Bragantina não apresentaram diferenças significativas no primeiro subcultivo, mas a maior concentração de TDZ ($0,05 \text{ mgL}^{-1}$) proporcionou menor crescimento do broto (1,87 cm) que diferiu significativamente do tratamento sem TDZ (T1) que alcançou média de 2,96 cm no segundo subcultivo. O número de novas gemas por explante foi semelhante estatisticamente tanto no primeiro quanto no segundo subcultivo, variando de 2,16 a 3,54 brotos por explante, com tendência de maior número de gemas no segundo subcultivo, acima de 3,0 gemas por explante, com exceção do tratamento com TDZ na concentração de $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ (2,92 gemas/explante). As concentrações utilizadas de TDZ não apresentaram efeito significativamente positivo para a cultivar Bragantina (Tabela 1. Para a cultivar cultivar Kuthiravally, os brotos desenvolveram mais em meio de cultura sem TDZ (1,95 cm e 1,64 cm), mas a diferença não foi significativa para os demais tratamentos em ambos os subcultivos que variou de 1,00 a 1,56 cm no primeiro subcultivo e de 1,36 a 1,66 cm no segundo subcultivo. Quanto ao número de novas gemas por explante, no primeiro subcultivo variou de 1,20 (sem TDZ) a 2,48 gemas por explante (TDZ a $0,02 \text{ mgL}^{-1}$), cuja diferença nessas concentrações foi significativa, mas no segundo subcultivo a taxa foi semelhante estatisticamente (Tabela 1).

Tabela 1. Médias de comprimento (cm) de brotos/explante e número de gemas/brotos em dois subcultivos das cultivares Bragantina e Kuthiravally em meio básico MS com $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP e diferentes concentrações de TDZ após 6 semanas de cultivo.

TDZ (mgL^{-1})	Cultivar Bragantina				Cultivar Kuthiravally			
	Broto (cm)/ Explante		Nº gemas/ explante		Broto (cm)/ Explante		Nº gemas/ explante	
	I Subcult.	II Subcult.	I Subcult.	II Subcult.	I Subcult.	II Subcult.	I Subcult.	II Subcult.
T0(0,0)	3,68 a	2,96 a	2,76 a	3,44 a	1,95 a	1,64 a	1,20 b	2,90 a
T1(0,01)	2,47 a	2,63 a b	2,64 a	3,59 a	1,56 a	1,66 a	2,24 ab	3,02 a
T2 (0,02)	2,66 a	2,42 a b	2,52 a	3,59 a	1,51 a	1,56 a	2,48 a	2,92 a
T3 (0,03)	3,06 a	2,74 a b	2,76 a	3,39 a	1,48 a	1,42 a	1,92 ab	2,98 a
T4 (0,04)	2,02 a	2,17 a b	2,16 a	3,15 a	1,20 a	1,36 a	1,60 ab	2,79 a
T5 (0,05)	2,14 a	1,87 b	2,42 a	2,92 a	1,00 a	1,53 a	1,26 b	3,35 a
Media	2,67	2,46	2,54	3,34	1,45	1,53	1,79	2,99
Geral								
DMS	1,87	0,87	1,15	0,83	1,61	0,72	1,20	1,04
CV (%)	35,26	17,75	22,85	12,59	55,88	23,64	33,85	17,47

Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação. DMS= Diferença mínima significativa.

Após os dois subcultivos, observou-se que o número de gemas por explante inicialmente introduzido (cinco para cada tratamento) das cultivares Bragantina e Kuthiravally, a média variou de 3,48 a 9,96 gemas para a cultivar Bragantina e de 2,40 a 5,74 para a cultivar Kuthiravally. Nas



concentrações de TDZ usadas não houve incremento positivo significativamente para ambas as cultivares, entretanto há uma tendência de diferenciação de maior número de gemas por explante na cultivar Bragantina quanto em meio de cultura sem a adição do TDZ. A cultivar Kuthiravally teve uma média de número de gemas por explante variando de 2,40 a 5,74, havendo assim, uma tendência no meio de cultura sem adição de TDZ à formação de novas gemas e conforme a concentração de TDZ aumenta, ocorre uma redução no número total de gemas, cuja a diferença não é significativa devido ao alto coeficiente de variação (43,94%) (Tabela 2).

Tabela 2. Médias de gemas diferenciadas após dois subcultivos das cultivares Bragantina e Kuthiravally em meio básico MS com 0,5 mgL⁻¹ de BAP e diferentes concentrações de TDZ após 6 semanas de cultivo em cada subcultivo.

Tratamentos	Médias N° de gemas do 2° Subcultivo	
	Bragantina	Kuthiravally
T0	9,96 a	5,14 a
T1	8,00 ab	5,74 a
T2	6,02 ab	5,64 a
T3	7,68 ab	4,08 a
T4	3,48 b	2,40 a
T5	5,36 ab	3,00 a
Media Geral	6,98	4,33
DMS	4,83	3,79
CV (%)	34,61	43,94

*Médias seguidas da mesma letra dentro das colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV= Coeficiente de variação. DMS= Diferença mínima significativa.

Conclusões

O meio básico de cultura MS com 0,5 mgL⁻¹ de BAP sem adição de TDZ promove uma taxa de multiplicação de novas gemas satisfatória em ambas as cultivares Bragantina e Kuthiravally de pimenteira-do-reino. Há uma tendência à medida que aumenta a concentração de TDZ no meio de cultura MS com 0,5 mgL⁻¹ de BAP promover menor crescimento dos brotos e menor taxa de diferenciação de novas gemas.

Referências Bibliográficas

- MOURA, E. F.; MENEZES, I. C. de; LEMOS, O. F. de. **Concentrações de citocinina e carvão ativado na micropropagação de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*L.)**. Ciência Rural, v. 38, n. 1, p. 72-76, 2008.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.