

**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

COMBINAÇÕES DE CITOCININAS NA PROLIFERAÇÃO *IN VITRO* DE BROTOS DE HÍBRIDOS DE *Piper nigrum* L.

Meiciane Ferreira Campelo¹, Oriel Filgueira de Lemos², Marli Costa Poltronieri³, Ilmarina Campos de Menezes⁴

¹ Engenheira-agrônoma, Mestranda em Agronomia- UFRA, meicianecampelo@gmail.com

² Engenheiro-agrônomo, Dr. Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, oriel.lemos@embrapa.br.

³ Engenheira-agrônoma MS Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, marli.poltronieri@embrapa.br.

⁴ Engenheira-agrônoma, Dra. Analista da Embrapa Amazônia Oriental, ilmarina.menezes@gmail.com.

Resumo: A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum*) é propagada principalmente por estaquia que, além de ser pouco eficiente, pode possibilitar a disseminação de doença como a fusariose. Dessa forma, testes para verificar a eficiência da micropropagação *in vitro* são pertinentes. Neste trabalho testou-se dois híbridos intraespecíficos de pimenteira-do-reino com o uso de diferentes combinações dos reguladores de crescimento BAP (0,0 ou 0,5 mg.L⁻¹) e TDZ (0,0; 0,25; 0,50; 1,0; 2,0; ou 4,0 µM) adicionados ao meio de cultura de Murashige Skoog (MS) acrescido de sacarose 3% e phytagel a 0,2% e pH ajustado para 5,8. Ápices caulinares foram inoculados em tubos de ensaio contendo 20 mL do meio de cultura e mantidos em sala de crescimento em condições controladas de cultivo. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 11 utilizando-se 5 repetições. A proliferação de brotos foi avaliada após seis semanas de cultivo *in vitro*. Melhores resultados na micropropagação foram observados nos meios contendo BAP e/ou com baixa concentração de TDZ. A utilização da citocinina BAP na concentração de 0,5 mg.L⁻¹ sem ou com a adição de 0,25µM de TDZ proporcionam resultados satisfatórios para a proliferação de brotos de pimenteira-do-reino, e há genótipo-especificidade para os híbridos intraespecíficos, indicando a necessidade de serem desenvolvidos protocolos regenerativos específicos para cada genótipo dessa espécie

Palavras-chave: micropropagação, regulador de crescimento

Introdução

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) é uma planta largamente utilizada como condimento na culinária. O método de propagação mais utilizado para essa espécie é a estaquia, e se não praticada corretamente, favorece a disseminação do fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, causador da doença fusariose (ALBUQUERQUE; DUARTE, 1977). A maioria das espécies apresenta potencialidade para a regeneração *in vitro*, desde que as exigências nutricionais, hormonais e ambientais sejam satisfatórias, tornando assim a micropropagação uma alternativa altamente promissora para tentar



solucionar problemas relacionados ao cultivo e produtividade da pimenteira-do-reino, produzindo plantas com características agrônômicas superiores e mudas em larga escala. Com o objetivo de aprimorar técnicas de cultivo *in vitro* de pimenteira-do-reino para a proliferação de brotações, testaram-se dois híbridos intraespecíficos com o uso de diferentes combinações de reguladores de crescimento BAP e TDZ.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará. Ápices caulinares de dois híbridos intraespecíficos de pimenteira-do-reino, um proveniente do cruzamento entre Apra x Guajarina e o segundo do cruzamento entre Bento x Guajarina, foram inoculados em condições assépticas em tubos de ensaio contendo 20 mL de meio básico de cultura de Murashige e Skoog (MS) com sacarose a 3%, vitamina MS, phytagel a 0,2% e suplementado com diferentes combinações de 6-Benzilaminopurina (BAP) e Thidiazurun (TDZ). Foram cultivados por seis semanas sob condições de fotoperíodo de 16 h.luz.dia⁻¹, com intensidade luminosa de 3.000 lux e temperatura de 25 ± 3°C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2 x 11, sendo 2 híbridos e 11 combinações de reguladores de crescimento (BAP x TDZ), num total de 22 interações (Tabela 1). Cada tratamento foi composto de cinco repetições sendo cada repetição constituída de um tubo de ensaio contendo uma gema apical. A avaliação foi quanto ao número de brotos por explante após o cultivo *in vitro* por seis semanas. Os dados foram submetidos à análise estatística de variância e teste de comparação de média de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Tratamentos utilizados no processo de propagação *in vitro* de dois híbridos intraespecíficos¹ de pimenteira-do-reino em meio básico de cultura MS considerando 11 combinações de BAP x TDZ.

Tratamento	BAP (mg.L ⁻¹)	TDZ (µM)
T1		0,0
T2		0,25
T3		0,50
T4	0,5	1,0
T5		2,0
T6		4,0
T7		0,25
T8		0,50
T9	0,0	1,0
T10		2,0
T11		4,0

¹Híbridos: (Apra x Guajarina) e (Bento x Guajarina)



Resultados e Discussão

A análise de variância para a avaliação do número de brotos por explante da interação híbridos *versus* tratamento, Tabela 1, revelou a existência de diferença significativa na média do número de brotos na interação analisada, uma vez que o valor de F calculado foi maior que o valor de F crítico, cujos valores são 2,065 e 0,035, respectivamente.

Tabela 1. ANOVA - Proliferação de brotos por explante de dois híbridos de pimenteira-do-reino em meio MS, suplementado com diferentes combinações de BAP x TDZ.

Fonte de Variação	GL	QM	F calculado	F crítico
Híbrido (C)	1	2,045	4,286	0,041
Tratamento (T)	10	2,247	4,709	0,000
Interação (CxT)	10	0,985	2,065	0,035
Resíduos	88	0,477		
Total	109			

G.L - Grau de Liberdade; QM - quadrado médio.

Média geral = 2,154; Coeficiente de variação = 32,06.

Os tratamentos com adição de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP não combinados com TDZ ou baixa concentração ($0,25 \mu\text{M}$) apresentaram maiores médias para a formação de brotação por explante para ambos os híbridos. Houve diferença estatística entre os tratamentos para o híbrido (Apra x Guajarina), que apresentaram maiores médias de brotos/explante, 4,0 e 3,4 para os tratamentos T1 e T2, respectivamente. Segundo Graça et al. (2001), o TDZ possui alta atividade de citocininas em cultivo *in vitro* quando utilizados em pequenas concentrações. Comparando-se os diferentes híbridos, foi possível observar diferença significativa no tratamento onde ocorreu adição apenas de BAP, em que o híbrido Apra x Guajarina produziu em média número maior de brotos/explante (4,00), diferindo do híbrido Bento x Guajarina que produziu em média 2,2 brotos/explante (Tabela 2). Esses resultados sugerem a existência de genótipo-especificidade na resposta de indução de brotações de pimenteira-do-reino *in vitro*. Variações na taxa de regeneração atribuídas a diferentes genótipos também são citadas para outras espécies micropropagadas, como é o caso da bananeira (MENDES et al., 1996).



Tabela 2. Comparação de médias da proliferação de brotos/explante de dois híbridos intraespecífico de pimenteira-do-reino, suplementado com diferentes combinações de BAP x TDZ.

(mg.L ⁻¹)		HÍBRIDO			
BAP	TDZ	Apra x Guajarina		Bento x Guajarina	
0,5	0,00	4,0	a A	2,2	a B
0,5	0,25	3,4	ab A	2,8	a A
0,5	0,50	2,2	bc A	1,8	a A
0,5	1,00	2,0	bc A	1,6	a A
0,5	2,00	1,8	c A	2,2	a A
0,5	4,00	2,2	bc A	1,8	a A
0,0	0,25	2,0	bc A	2,0	a A
0,0	0,50	2,2	bc A	1,8	a A
0,0	1,00	2,0	bc A	2,0	a A
0,0	2,00	1,6	c A	2,2	a A
0,0	4,00	1,8	c A	1,8	a A

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Comparação de médias entre os tratamentos são indicadas por letras minúsculas, enquanto que as comparações de médias entre os híbridos são indicadas por letras maiúsculas.

Conclusão

A utilização da citocinina BAP na concentração de 0,5 mg.L⁻¹ sem ou com a adição de 0,25µM de TDZ proporcionam resultados satisfatórios para a proliferação de brotos de pimenteira-do-reino, e há genótipo-especificidade para os híbridos intraespecíficos, indicando a necessidade de serem desenvolvidos protocolos regenerativos específicos para cada genótipo dessa espécie.

Referências Bibliográficas

- ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R. Pimenta do reino e suas doenças na região Amazônica. **Ciência Agrícola**, v. 2, p. 114–119, 1977.
- GRAÇA, M. E. C.; KALIL FILHO, A. N.; MEDEIROS, A. C. de S.; TAVARES, F. R. Efeitos das citocininas benzilamino purina e thidiazuron, na multiplicação “in vitro” de brotações de *Eucalyptus Dumni* MAID. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 43, p. 107-112, jul./dez. 2001.
- MENDES, B. M. J.; MENDES, F. J.; TULMANN NETO, A.; DEMETRIO, C. G. B.; PUSKE, O. R. Efficacy of banana plantlet production by micropropagation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 12, p. 863-867, dez. 1996.