

## AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS ADJUVANTES NITRATO DE PRATA E CARVÃO ATIVADO NO CULTIVO *IN VITRO* DE *CAPSICUM FRUTESCENS*

**KREMER, Frederico Schmitt.<sup>1</sup>; DODE, Luciana Bicca.<sup>2</sup>; TAVARES, Vinícius R.S.<sup>1</sup>; GONÇALVES, Breno Xavier<sup>2</sup>; RADMANN, Elizete Beatriz<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup> UFPel, Biotecnologia (Bacharelado); <sup>2</sup> UFPel, CDTec, lucianabicca@gmail.com; <sup>3</sup> UFPel, Agronomia; <sup>4</sup> UFPEL, Instituto de Biologia.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Capsicum*, família *solanaceae*, é composto por mais de trinta espécies conhecidas, sendo que apenas cinco (*C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. annum*, *C. chinense* e *C. pubescens*) são domesticadas e consumidas pelo ser humano (SUDRÉ *et. al*, 2010). Estas espécies são amplamente utilizadas na alimentação principalmente como condimento, visto que muitas apresentam um gosto “picante”, propriedade denominada pungência (MANDAIL, 2005).

No Brasil, as espécies de *Capsicum* adquiriram uma grande importância econômica e social nas regiões onde são cultivadas. Nestes locais, a produção se dá principalmente na forma de agricultura familiar, servindo de sustento um grande número de famílias (MANDAIL, 2005). A importância econômica das pimentas do gênero *Capsicum*, sobretudo na região Sul, torna necessário o desenvolvimento de projetos que promovam o melhoramento genético destas espécies, visto que são suscetíveis à pragas e doenças.

No gênero *Capsicum*, *C. annum* tem sido amplamente estudada quanto ao cultivo *in vitro*. Protocolos para a micropropagação desta espécie já estão disponíveis, apesar de terem sido desenvolvidos para genótipos específicos (SANATOMBI *et. al*, 2007). O ajuste de diversos parâmetros como a concentração de hormônios e a adição de adjuvantes no meio de cultura deve ser considerado antes que estes protocolos sejam estendidos para as demais espécies.

Dentro os adjuvantes apresentados na literatura destacam-se o nitrato de prata e o carvão ativado. O nitrato de prata é utilizado devido à sua ação antagonista ao etileno, já sendo reportado que a adição deste adjuvante pode promover um maior número de calos e/ou calos organogênicos no cultivo *in vitro* de algumas espécies (WU *et. al*, 2006). Já o carvão ativado é utilizado devido à sua capacidade adsorbtiva, sendo observado que a adição deste adjuvante interfere nas concentrações de reguladores de crescimento disponíveis no meio de cultura (WINKLE, 2000).

Este trabalho tem por objetivo demonstrar os efeitos da adição do nitrato de prata e de carvão ativado no cultivo *in vitro* de uma variedade de *Capsicum frutescens*, analisando-se os efeitos destes adjuvantes no desenvolvimento de calos, calos organogênicos e brotos.

### METODOLOGIA

Os explantes utilizados no presente estudo foram obtidos a partir de germinação *in vitro*. Para obtenção destas sementes, frutos maduros de *Capsicum frutescens* foram desinfestados com solução de hipoclorito de sódio 2% (V/V) durante 15 minutos. Após a lavagem, os frutos foram cortados com um bisturi e com

auxílio de uma pinça foi feita a extração das sementes em condições assépticas da câmara de fluxo laminar.

Para o estabelecimento do cultivo *in vitro*, as sementes obtidas foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio 1% (V/V) durante 2 minutos e, posteriormente, lavadas com água destilada estéril abundante, secas e então distribuídas em meio de cultura com a metade dos sais do MS, contendo 1% de sacarose e 6g de Agar, e incubadas nas condições da sala de cultivos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal do CDTEc/UFPEL: 16 h de fotoperíodo e  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 15 dias. Folhas cotiledonares e hipocótilos foram utilizados para o estabelecimento dos estudos de regeneração. Estes explantes foram colocados em placas de cultivo contendo 20 ml de meio MS 3%, solidificado com 7g de Agar. Como adjuvantes foram adicionados nitrato de prata  $3\text{mg.L}^{-1}$  ou carvão ativado  $2\text{g.L}^{-1}$  e a combinação de reguladores de crescimento:  $5\text{mg.L}^{-1}$  de BAP,  $2\text{mg.L}^{-1}$  ANA. O delineamento foi fatorial contendo 3 formulações de meio de cultivo e 2 fontes de explantes (3 X 2) e para cada combinação foram preparadas 15 repetições (placas contendo 6 explantes). As placas foram incubadas nas condições da sala de cultivo e repicadas para mesmo meio a cada 30 dias. Foram realizadas avaliações aos 30 e 60 dias pós inoculação dos explantes, considerando-se o número de explantes com calos, calos organogênicos, brotos, radículas, assim como a presença de oxidação. Os resultados obtidos foram comparados através do teste de Tuckey ao nível de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da presença de calos realizada aos 30 dias (Tab. 1) observou-se que nos tratamentos cujos explantes utilizados foram folhas cotiledonares não houve diferenças significativas entre as médias obtidas a partir meio MS sem adjuvantes e os resultados obtidos a partir do meio contendo nitrato de prata. Entretanto, estes resultados se mostraram superiores aos obtidos a partir do meio contendo carvão ativado. Quando o explante inicial utilizado foi hipocótilo a análise demonstrou que não houve diferença significativa entre os três tratamentos.

Nesta avaliação também foi possível observar uma diferença estatística significativa quando os diferentes explantes foram submetidos aos tratamentos contendo adjuvantes (Tab. 1). No tratamento com nitrato de prata, as placas que tiveram como explante inicial folhas cotiledonares apresentaram uma maior média de explantes com calos, já no caso das placas submetidas ao tratamento com carvão ativado um número maior de explantes com calos foi obtido a partir dos hipocótilos.

Tabela 1 - Número médio de explante com calos após período de incubação de 30 dias.

Explante/Meio	MS	MS + Nitrato de Prata	MS + Carvão Ativado	Média
Cotilédone	4,9 Aa	6 Aa	1,1 Bb	4 a
Hipocótilo	4,2 Aa	4,2 Ba	3,3 Aa	3,9 a

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem nas variáveis apresentadas na linha e médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem nas variáveis da coluna quando comparadas através do teste de Tuckey ao nível de 5%.

Na avaliação da presença de calos organogênicos realizada aos 30 dias (Tab 2), no caso dos cotilédones, não foram observadas diferenças significativas entre o tratamento com meio MS sem adjuvantes e o tratamento com carvão ativado, bem como entre os tratamentos com MS sem adjuvantes e com nitrato e prata.

Entretanto, houve diferença significativa entre os resultados obtidos pelo tratamento contendo nitrato de prata e o contendo carvão ativado.

Quando os explantes iniciais foram hipocótilos não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. Também não foram observadas diferenças nos resultados obtidos a partir de explantes diferentes submetidos ao mesmo tratamento.

Tabela 2 - Número médio de explante com calos organogênicos após período de incubação de 30 dias.

Explante/Meio	MS sem adjuvantes	MS + Nitrato de Prata	MS + Carvão Ativado	Média
Cotilédone	0,7 Aab	1,8 Aa	0 Ab	0,833 a
Hipocótilo	0,9 Aa	0,9 Aa	0,7 Aa	0,833 a

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem nas variáveis apresentadas na linha e médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem nas variáveis da coluna quando comparadas através do teste de Tuckey ao nível de 5%.

A avaliação da presença de calos realizada aos 60 dias (Tab. 3) demonstrou que, no caso das folhas cotiledonares, o meio MS sem adjuvantes e o meio contendo nitrato de prata não diferiram significativamente entre si. Neste caso, os resultados de ambos os tratamentos foram estatisticamente superiores aos observados no tratamento com carvão ativado. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos no caso dos hipocótilos.

No caso do tratamento com carvão ativado foram observadas diferenças significativas entre os resultados obtidos pelos diferentes explantes indicando interação adjuvante/explante. Neste caso, as placas contendo hipocótilos apresentaram uma média maior de explantes com calos.

Tabela 3 - Número médio de explante com calos após período de incubação de 60 dias.

Explante/Meio	MS sem adjuvantes	MS + Nitrato de Prata	MS + Carvão Ativado	Média
Cotilédone	6 Aa	5,2 Aa	1 Bb	4,06 b
Hipocótilo	5 Aa	6 Aa	5 Aa	5,35 a

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem nas variáveis apresentadas na linha e médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem nas variáveis da coluna quando comparadas através do teste de Tuckey ao nível de 5%.

Na avaliação da presença de brotos realizada aos 60 dias (Tab. 4), no caso das folhas cotiledonares, foi observado um maior desenvolvimento de brotos no meio MS sem adição de adjuvantes. No caso dos hipocótilos não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. A análise também demonstrou uma diferença significativa nos resultados obtidos pelos diferentes explantes cultivados no meio MS sem adjuvantes. Neste caso, houve um maior desenvolvimento de brotos quando foram usadas folhas cotiledonares.

Tabela 4 - Número médio de explante com brotos após período de incubação de 60 dias.

Explante/Meio	MS sem adjuvantes	MS + Nitrato de Prata	MS + Carvão Ativado	Média
Cotilédone	3,8 Aa	0,8 Ab	0 Ab	1,53 a
Hipocótilo	1 Ba	2,4 Aa	1,6 Aa	1,71 a

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem nas variáveis apresentadas na linha e médias seguidas da mesma letra maiúscula não diferem nas variáveis da coluna quando comparadas através do teste de Tuckey ao nível de 5%.

#### 4 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstra que, nas condições impostas, a adição dos adjuvantes não promoveu um maior desenvolvimento de calos, calos organogênicos ou brotos, quando comparada aos resultados obtidos a partir do meio MS sem adjuvantes. Foi também demonstrado que explantes diferentes de *Capsicum frutescens* submetidos a um mesmo tratamento podem responder de forma diferente. Por fim, o estudo também demonstrou que, nas condições impostas, o meio MS sem adição promove um maior desenvolvimento de brotos.

#### 5 REFERÊNCIAS

- MADAIL, João Carlos Medeiros; SCHNEID, Lauro Francisco; SIMA, Luiz Fernando; WENDT, Anelise Neumann. Economia da produção de pimenta vermelha no município de Turuç-RS. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. N. 19. 2005.
- SANATOMBI, K.; SHARMA, G. J. Micropropagation of *Capsicum annum* L. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**. V. 35. N. 1. 58 – 64.
- SUDRÉ, C.P; GONÇALVES, L.S.A; RODRIGUES, R; DO AMARAL JÚNIOR, A.T; RIVA-SOUZA, E.M; BENTO, C. dos S. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. **Online Journal: Genetics and Molecular Research**. V. 9, N. 1. 283 – 294.
- WINKLE, Stephen C. Van. **The effect of activated carbon on the organic and elemental composition of plant tissue culture medium**. Maio de 2000. Dissertação (Programa de pós-graduação do Institute of Paper Science Technology).
- WU, L. M; WEI, Y. M; ZHENG, Y. L. Effect of Silver Nitrate on the Tissue Culture of Immature Wheat Embryos. **Russian Journal of Plant Physiology**. V. 53, N. 4. 530 – 534. 2006.