

## REGENERAÇÃO DE PIMENTA (*Capsicum frutescens* L.) A PARTIR DE HIPOCÓTILOS

**TAVARES, Viric R.S.<sup>1</sup>; KREMER, Frederico S.<sup>1</sup>; GONÇAVES, Ben.<sup>3</sup>; X  
RADMANN, Elizete Beatriz<sup>4</sup>**

**Orientadora: DODE, Luciana B.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>UFPEL, Biotecnologia (Bacharelado); <sup>2</sup>UFPEL, CDTec, [lucianabicca@gmail.com](mailto:lucianabicca@gmail.com); <sup>3</sup>UFPEL, Agronomia;

<sup>4</sup>UFPEL, IB.

### 1 INTRODUÇÃO

A pimenta (*Capsicum* spp.) é um produto de grande importância econômica brasileira, sobretudo para a agricultura familiar. É considerado alimento devido ao seu sabor picante e aromático. É caracterizada pela presença de sementes eudicotiledôneas e pertence à ordem Solanales e família Solanaceae. No Rio Grande do Sul, o cultivo da pimenta é a base de sustentação financeira de diversos agricultores para a cidade de Tur, conhecida como a "Capital Nacional da Pimenta" (MADAIL *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de protocolos ideais para o cultivo *in vitro* de pimenta, além de ser necessário para o manejo de tecido micropropagado, também pode ser utilizado para a conservação de germoplasmas. As metodologias devem ser ajustadas aos genótipos de interesse e registradas em bancos de germoplasma independentes (SANATOMBI & SHARMA, 2007).

A micropropagação é uma técnica de cultura de células utilizada corretamente, pode gerar um grande número de plantas em pouco tempo, porém é uma técnica com diversas variáveis, de modo que a explante, até a aclimação dos cultivos e todos os cuidados durante o processo são fundamentais para o sucesso (MOURA *et al.*, 2008).

Durante a micropropagação, uma importante etapa inclui a regeneração, que a organogênese é induzida pelo uso de reguladores de crescimento contidos no meio de cultura. Normalmente uma combinação de citocininas e auxinas. A citocinina mais utilizada é a 6-benzilaminopurina (BAP), enquanto as auxinas podem ser o ácido naftalenoacético (NAA) ou o ácido indolacético (IAA) (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Além dos hormônios, outros fatores são necessários para a regeneração, como os adjuvantes presentes no meio. Entre eles, destacam-se o nitrato de prata e o carvão ativado. O nitrato de prata possui função de controle da senescência pois inibe a produção de gás etileno e o hormônio

em função do que promove a maturação vegetal. Já o caso das outras funções, absorve e composto são fitohormônios reguladores de crescimento (ANANTASARAN & KANCHANAPOOM, 2008; MOURA *et. al*, 2008).

Neste trabalho, objetivou-se definir a melhor combinação de auxina/citocinina (BAP/AIB ou BAP/ANA) e o efeito de adjuvantes na regulação de *Capsicum frutescens*, cultivada em uma propriedade no sul do Rio Grande do Sul.

## 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

As pimentas utilizadas foram provenientes do cultivo em uma propriedade em Pelotas, do sul do Rio Grande do Sul, e pertencem à espécie *Capsicum frutescens*.

Para obtenção de matéria vegetal para a serem utilizadas para cultura de tecidos, frutos maduros foram coletados e desinfetados com hipoclorito de sódio durante 20 minutos. Após lavagem em água destilada e esterilizada, com auxílio de pinça e bisturi, as sementes foram secas em câmara de sílica gel durante 24 horas em temperatura ambiente (10°C ± 2).

Para a germinação das sementes, estas foram desinfetadas superficialmente em solução de hipoclorito de sódio (10% (v/v)) durante 15 minutos sob agitação e lavadas três vezes em água destilada. As sementes foram secas em papel filtro esterilizado e transferidas asepticamente para placas de Petri descartáveis contendo 20 mL de meio de cultivo com 100 mg mL<sup>-1</sup> de sais do meio MS, 1% (p/v) de sacarose e solidificado com 0,6% (p/v) de ágar. As sementes foram mantidas na sala de cultivo com temperatura ambiente e 16h de fotoperíodo.

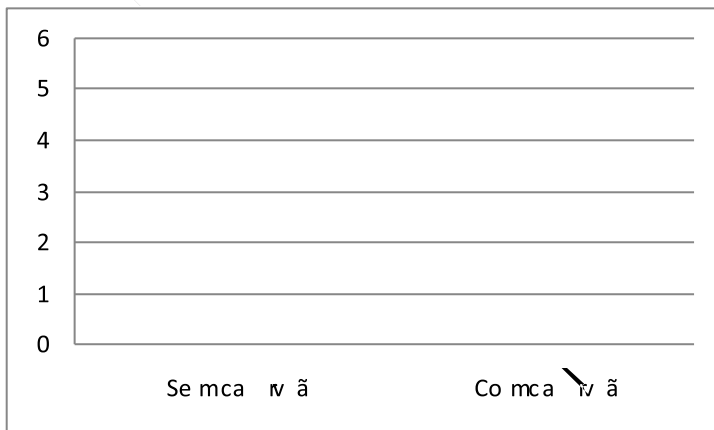
Os hipocótilos foram isolados após 15 dias após a emergência e transferidos na posição horizontal para MS, 3% (p/p) de sacarose, 0,6% (p/v) de Agar, 3mg.L<sup>-1</sup> de Nitrato de Prata, pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem). Os tratamentos constaram da combinação de reguladores de crescimento Benzil-amino-purina e ácido naftalenoico a 5mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,2mg.L<sup>-1</sup> ANA, respectivamente) ou Benzil-amino-purina e ácido indolacético a 5mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,5mg.L<sup>-1</sup> AIB e da concentração de carvão (1g.L<sup>-1</sup>).

Foram realizadas 15 repetições de seis explantes na horizontal. As combinações de hormônio e a presença ou não de carvão foram organizadas na forma de fatorial (2x2). Após 30 dias foram avaliados o crescimento e a presença de explantes com auxílio de uma régua milimétrica. A determinação do melhor tratamento foi realizada com base no número de explantes com maior sobrevivência após 30 dias foram comparadas estatisticamente através do teste de Tukey ao nível de 5% -se o programa Winstat (Machado, 2003).

As gemas e brotos obtidos na etapa deprecados para meio de alongamento (MS com 3% (p/v) de sacarose, 0,6% (p/v) de ágar suplementado com nitrato de prata, GA3, BAP e ANA ou AIB). Esta etapa do experimento ainda está em andamento.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar nos o número médio de explantes observou diferenças significativas quanto à sítios de diferenciação aos tipos de auxinas. Porém, a presença de carvão influenciou o resultado. Nos tratamentos com meio sem carvão obtivemos um maior número médio de explantes com calos (5,7) que no meio contendo carvão (4,72), como mostrado na Fig. 1.



**Figura 1** - Número médio de explantes com calos após período de incubação de 30 dias em meio MS contendo 3% de sacarose, 7g de Agar, 3mg.L<sup>-1</sup> de AgNO<sub>3</sub>, 5mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,2mg.L<sup>-1</sup> ANA ou 0,5mg.L<sup>-1</sup> AIB e diferentes adjuvantes.

Analisando o número médio de explantes com brotos e diferenciação significativa entre adjuvantes e onde os meios contendo carvão proporcionaram a produção (2 ou 2,8 explantes média, em AIB e ANA respectivamente). Contudo, não houve diferença quanto ao tipo de auxina, como resultante mostrado na Tab. 1.

**Tabela 1** - Número médio de explantes com brotos após período de incubação de 30 dias em meio MS contendo 3% de sacarose, 7g de Agar, 3mg.L<sup>-1</sup> de AgNO<sub>3</sub>, 5mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,2mg.L<sup>-1</sup> ANA ou 0,5mg.L<sup>-1</sup> AIB e diferentes adjuvantes.

Auxina/Meio	Sem carvão	Com carvão	Média
AIB	1,53 Aa	2 Aa	1,72 A
ANA	0,4666 Bb	2,8 Aa	1,63 A

Médias seguiu das da mesma letra m á ú s c u l a r i á v e i s d a c o l u n a e m é d i a s s  
da mesma letra minúscula não diferem na linha q u a d o c o m p a  
nível de 5 %

Hipótese I *Capsicum frutescens* possui maior taxa de regeneração quando utilizado o tratamento com as concentrações de hormônios regulando o crescimento de 5mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,2mg.L<sup>-1</sup> ANA e com a presença dos adjuvantes de prata e cálcio ativado em conjunto com 5mg.L<sup>-1</sup> BAP e 0,5mg.L<sup>-1</sup> AIB e sem a presença de cálcio.

#### 4 CONCLUSÃO

Na regeneração de hipótese I *Capsicum frutescens* L., a presença de cálcio ativado como adjuvante no meio é essencial independente da auxina utilizada.

#### 5 REFERÊNCIAS

ANANTASARAN, Jackrit; KANCHANAPOOM, Kamnoon. Influence of medium formula and silver nitrate on *in vitro* plant regeneration of *Zinnia* cultivars. **Songklanakarín Journal of Science and Technology**, Thailand, v. 30, n. 1, p. 1-6, jan-fev 2008.

MADAIL, J.C.M., Schneid, L.F., Sima, L.F., Wendt, A.N., Economia da produção de piprenta vermelha no município de R. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** n. 19. EMBRAPA, 2005.

GRATTAGLIA, D.; MACHADO A. Micropropagação de CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998. p.183-260

MACHADO A.A.; CONCEIÇÃO W. **WinStat – Sistema de Análises Estatísticas para Windows**, versão 2.0. Núcleo de Informática Aplicada - ROOM, 2003.

MOURA, Elisa F.; MENEZES, Ilamarina Campos de; LEMOS, Oriel Filgueira de. Concentrações de citocinina e cálcio ativado na regeneração de *Capsicum frutescens* L. **Ciência e Tecnologia**, v.38, n.1, p.72-76, jan-fev, 2008.

QUEIROZ, Telma F. N.; FREITAS, Raquel A.; DIAS, Denise C. F. S.; ALVARENGA, Evênia Mantovani. Esperança da do mênica malagueta (*Capsicum frutescens* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 23, n. 2, p. 309-312, 2001.

SANATOMBI, K.; SHARMA, G. J.. Micropropagation of *Capsicum annuum* L.. **Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj**, vol. 35, n. 1, p. 57-64, 2007.