

EFEITO DO CARVÃO ATIVADO NA REGENERAÇÃO *IN VITRO* DE PIMENTA (*Capsicum frutescens*)

GONÇALVES, Breno Xavier¹; KREMER, Frederico Schmitt¹; TAVARES, Vinicius da Silva¹; DODE, Luciana Bicca¹

¹Centro de Desenvolvimento Tecnológico-Núcleo de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas-UFPEL. e-mail: bgoncalves.faem@ufpel.edu.br

1 INTRODUÇÃO

A pimenta é uma olerícola muito apreciada como condimento além de possuir grande potencial de uso medicinal. O aprimoramento de técnicas de cultivo *in vitro* para genótipos de interesse oferece uma gama de vantagens, permite a clonagem de plântulas, sendo ferramenta essencial para a aplicação de técnicas de engenharia genética. Entretanto, protocolos para cultura de tecidos *in vitro* ainda exigem padronização e aperfeiçoamento, dependendo dos genótipos de interesse. Estudos têm demonstrado que o uso de carvão ativado em meios de cultura tem contribuído na fase de estabelecimento e proliferação dos brotos, visto que quando utilizado como adjuvante, o carvão promove a adsorção de compostos fenólicos (MOURA, 2008), inibindo a oxidação dos explantes, possibilitando um maior aproveitamento do meio e um melhor desenvolvimento. Normalmente utiliza-se uma baixa concentração de reguladores de crescimento em meio Murashige e Skoog (MS), como relatado por Fonseca (2011) em *Mentha arvensis* L., onde seu melhor resultado foi utilizando 0,5 mg.L⁻¹ de ANA e 0,5 mg.L⁻¹ de BAP. Entretanto, quando utiliza-se adjuvantes no meio MS, a concentração de fitorreguladores deve ser ajustada, pois o carvão ativado além de adsorver compostos fenólicos, possivelmente adsorve também uma parte dos reguladores de crescimento presentes no meio de cultivo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi testar o efeito do carvão ativado como adjuvante em meio MS, contendo doses elevadas de auxinas e citocininas.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

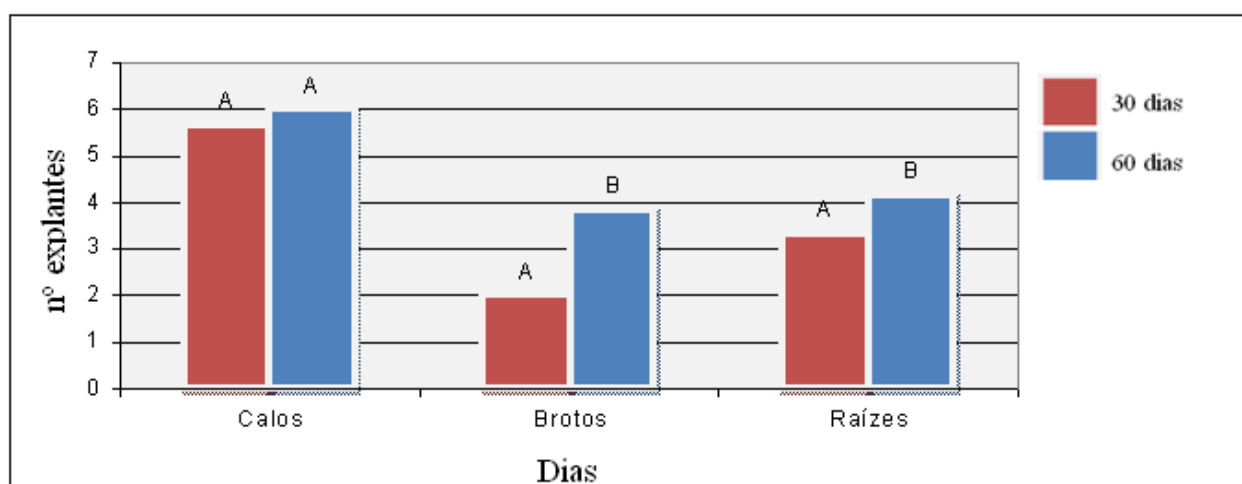
Frutos de pimenta foram coletados na região de Pelotas e desinfestados superficialmente com solução 1%(V/V) de hipoclorito de sódio. Após a lavagem em água destilada, sementes foram removidas da placenta dos frutos com auxílio de pinça e bisturi. Depois de secas a temperatura ambiente sobre papel, as sementes de pimenta (*Capsicum frutescens*) foram desinfestadas em hipoclorito 1% durante 20 minutos em agitador magnético, lavadas com água em abundância e, assepticamente transferidas para placas contendo meio Murashige & Skoog (1962) com a concentração de sais reduzida à metade e incubadas 25°C e 16h de fotoperíodo. Os explantes utilizados foram obtidos de plântulas com 15-21 dias. Para a adequação deste protocolo, foram realizadas 6 repetições e em cada repetição foi utilizado 6 explantes (hipocótilos), totalizando 36 explantes. Os hipocótilos foram dispostos horizontalmente no meio de cultura contendo meio MS 3% de sacarose, 7,0 g.L⁻¹ de Agar, 5mg.L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP), 3mg.L⁻¹ de ácido naftaleno acético (ANA), além de 100 mg.L⁻¹ de carvão ativado, sendo feita a repicagem dos explantes a cada 30 dias. O número de explantes formando calos, brotos e raízes foram avaliados aos 30 e 60 dias e as médias comparadas através

do teste de Tuckey ao nível de 5%. Após 60 dias os brotos oriundos deste cultivo foram repicados para meio de alongamento contendo menores concentrações de citocininas e AIB como auxina, além de ácido giberélico e os adjuvantes carvão ativado e nitrato de prata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obeve-se, aos 30 dias de cultivo, ~~em cada placa,~~ em média, 5,6 explantes apresentando calos, 2 apresentando brotos e 3,3 apresentando raízes. Após 60 dias, 6 explantes apresentando calos, 3,8 apresentando brotos e 4,2 apresentando raízes (Fig.1). Houve diferença significativa ~~no número médio de explantes com~~ brotos e raízes quando comparados nas observações realizadas aos 30 e 60 dias de cultivo. Neste trabalho obteve-se um número de brotos bastante superior aos valores relatados por Moura (2008), que obtiveram 1,33 brotos utilizando 2000 mg.L⁻¹ de carvão ativado e 4,5 mg.L⁻¹ de BAP, para explantes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.). Os resultados deste trabalho mostraram-se superiores também em relação aos de Kumar (2005), o qual obteve em média 2 brotos utilizando hipocótilos de *Capsicum annum* L. em meio MS contendo 6,0 mg.L⁻¹ de Benzil Adenina (BA) e 0,4 mg.L⁻¹ de Ácido Indol Acético (AIA), suplementado com nitrato de prata.

Observou-se que os hipocótilos de pimenta *Capsicum frutescens* produziram um grande número de brotos (Fig.1), sem a ocorrência de oxidação (Fig.2), reforçando o papel do carvão ativado como adjuvante capaz de adsorver os compostos tóxicos que provocam oxidação e escurecimento dos explantes e do meio de cultivo, regulando também na disponibilidade dos constituintes do meio aos explantes (COSTA, 2006). Aliado a esse fato, observou-se que se fez necessário o uso de altas concentrações de reguladores de crescimento exógenos no meio de cultura, pois o carvão ativado, além de adsorver os polifenóis, também adsorve uma parte dos fitorreguladores (EBERT & TAYLOR, 1990), sendo necessário que estes sejam colocados em quantidades superiores às utilizadas em meios sem a presença deste adjuvante.



*Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tuckey.

Figura 1 – Número médio de hipocótilos de pimenta (*Capsicum frutescens*) apresentando calos, brotos e raízes após os períodos de 30 e 60 dias. Explantes incubados em meio de cultura MS 3%

contendo $5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de BAP, $3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ANA e $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de carvão ativado, com calos, brotos e raízes após incubação 30 e 60 dias 25°C e 16h de fotoperíodo.



Figura 2 – Broto de pimenta (*Capsicum frutescens*) transferido para meio de alongamento. A brotação foi transferida para o meio de alongamento após os 60 dias de cultivo.

4 CONCLUSÃO

O protocolo utilizado neste experimento foi satisfatório para a regeneração *in vitro* da pimenta *Capsicum frutescens*, no qual se confirmou a importância da utilização de adjuvantes combinados a uma adequada concentração de hormônios vegetais no meio de cultivo.

5 REFERÊNCIAS

COSTA, Frederico H. da Silva *et al.* Efeito da Integração entre Carvão Ativado e N^6 -Benzilaminopurina na Propagação *in vitro* de Bananeira, cv. Grand Naine (AAA)¹. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 280-283, Agosto 2006.

EBERT, A.; TAYLOR, H.F. Assessment of the changes of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations in plant tissue culture media in presence of activated charcoal. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.20, p.165-172, 1990.

FONSECA, Valéria O *et al.* Interação de concentrações de ANA e BAP na indução de calos de menta japonesa (*Mentha arvensis* L.). **Congresso Brasileiro de Olericultura**. Viçosa, 2011.

KUMAR, H.B *et al.* Direct shoot organogenesis on shoot apex from seedling explants of *Capsicum annum* L. **Scientia Horticulturae**, v.106, p.237–246, 2005.

MOURA, Elisa Ferreira; DE MENEZES, Ilmarina Campos; DE LEMOS, Oriel Filgueira. Concentrações de Citocinina e Carvão Ativado na Micropropagação de Pimenta-do-Reino. **Ciência Rural**, v.38, n.1, jan-fev, 2008.