CIRCULAR TÉCNICA

n. 164 - setembro - 2012 ISSN 0103-4413

EPAMIG
Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Publicações
Av. José Cândido da Silveira, 1.647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - site: www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000
Disponível no site, em Publicações

GOVERNO DE MINAS

Germinação in vitro e desenvolvimento inicial de pimentão em diferentes concentrações de sacarose e sais no meio de cultura[1]

Luciana Nogueira Londe[2]
Ricardo Ribeiro Souza[3]
Emanuelle Ferreira Melo[4]
Maria Nilfa Almeida Neta [5]
Annanda Mendes Costa [6]
Isabela Cristina Pires Gomes [7]

INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) é uma das dez hortaliças de maior importância econômica no mercado brasileiro. Solanácea de alto valor alimentício está entre as hortaliças mais consumidas no Brasil e cultivadas em ambiente protegido. É uma planta arbustiva, originária do continente americano, com sistema radicular pivotante e profundo, atingindo até 120 cm de profundidade. Seus frutos possuem alto teor de vitamina C e são utilizados na fabricação de condimentos, conservas, molhos, etc.

A micropropagação in vitro pode ser útil na produção de plantas com alta qualidade sanitária, isentas de vírus, além de ser uma ferramenta importante para a manutenção e o intercâmbio de germoplasma (ASSIS, 1999; FLETCHER; FLETCHER, 2001).

Segundo Maciel, Silva e Pasqual (2000), a propagação in vitro é uma técnica de cultura de tecidos bem-sucedida e propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção em curto tempo e em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade vegetal.

Durante o cultivo in vitro, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas (GEORGE, 1996).

---

[1]Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte de Minas. Tel.: (38) 3834-1760. Correio eletrônico: ctnm@epamig.br

[2]Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte de Minas, Caixa Postal 12, CEP 38525-000 Nova Porteirinha-MG. Correio eletrônico: luciana@epamig.br

[3]Graduando Agronomia UNIMONTES-Campus Janaúba, Caixa Postal 91, CEP 39440-000 Janaúba-MG. Correio eletrônico: ribeiroricardo34@yahoo.com.br

[4]Agrônoma, Bolsista Pós-Doc FAPEMIG/EPAMIG Norte de Minas, Caixa Postal 12, CEP 38525-000 Nova Porteirinha-MG. Correio eletrônico: emanuellemelo@yahoo.com.br

[5]Graduanda Agronomia UNIMONTES-Campus Janaúba, Caixa Postal 91, CEP 39440-000, Janaúba-MG. Correio eletrônico: marianetaagronomia@hotmail.com

[6]Graduanda Agronomia UNIMONTES-Campus Janaúba, Caixa Postal 91, CEP 39440-000, Janaúba-MG. Correio eletrônico: annanda14@gmail.com

[7]Graduanda Agronomia UNIMONTES-Campus Janaúba, Caixa Postal 91, CEP 39440-000, Janaúba-MG. Correio eletrônico: belapgomes@yahoo.com.br

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo in vitro. O meio utilizado para a cultura de embriões é o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com algumas variações de hormônios, dependendo do genótipo e do estádio de desenvolvimento do embrião, sendo a taxa de germinação inversamente proporcional à idade do embrião (BRUCK; WALKER, 1985). Em razão disso, têm sido realizados trabalhos com o objetivo de elucidar os efeitos de diversos fatores no cultivo in vitro de embriões, dentre eles o pH, ágar, concentrações do meio MS, sacarose, ácido giberélico e carvão ativado (PASQUAL; PINTO, 1988), além dos estádios de desenvolvimento embrionário (RIBEIRO et al., 1999).

Embora as células apresentem potencial para realizar fotossíntese in vitro, o crescimento da maioria das culturas é sustentado pela fonte de carboidrato adicionado ao meio de cultura. Entretanto, os carboidratos no meio inibem a síntese de clorofila e, portanto, reduzem a capacidade fotossintética das culturas. A sacarose é o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos, suportando mais altas taxas de crescimento na maioria das culturas. Os embriões nos estádios iniciais de desenvolvimento necessitam de concentrações elevadas de sacarose, entre 12% e 18% (CALDAS; HARIDASAN; FERREIRA, 1998).

É importante evitar a germinação precoce in vitro, pois as plântulas resultantes poderão ser anormais ou fracas. Meios com alta concentração de sacarose têm sido utilizados para minimizar esse processo (PASQUAL; PINTO, 1988).

Modificações visando otimizar o crescimento in vitro no meio de cultura MS são comumente utilizadas, dentre elas diferentes concentrações. A alta concentração de sais do meio MS, quando comparada a outros meios, pode ser inadequada ao processo morfogenético. Ribeiro et al. (1999), ao estudarem o comportamento de embriões de laranjeira 'Pera' em diferentes concentrações de sacarose e do meio de MS, concluíram que o meio MS com 75% da concentração original e 60 g/L de sacarose foi o mais eficiente no desenvolvimento dos embriões.

Este trabalho tem como objetivo estudar a influência de diferentes concentrações de sacarose e sais no meio MS na germinação in vitro de pimentão.

MATERIAL E MÉTODO

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da EPAMIG Norte de Minas situada em Nova Porteirinha, MG. Sementes de pimentão cv. Cascadura Ikeda foram utilizadas como fonte de explantes.

As sementes foram desinfestadas em câmara de fluxo laminar por meio de imersão durante 1 minuto em álcool 70%, sob agitação. Em seguida, as sementes foram imersas em água sanitária comercial (2,0% a 2,5% de cloro ativo), por 20 minutos, enxaguando-as por três vezes consecutivas em água destilada e autoclavada.

Após a desinfestação, as sementes foram estabelecidas in vitro individualmente em tubos de ensaio de 16 x 150 mm, contendo os diferentes tratamentos. Foram testados os meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) 50% e 100%, acrescidos de diferentes concentrações de sacarose (0; 15; 30; 45 e 60 g/L). Os meios foram solidificados com ágar 0,7% e o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120 °C, durante 20 minutos. Após o estabelescimento in vitro, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de 52 µmol/m^2/s, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2 °C. A avaliação foi realizada após 30 dias de incubação, sendo observado o porcentual de germinação, o número de folhas formadas, o comprimento da parte aérea e comprimento da raiz das plântulas.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento inteiramente casualizado, constituído de quatro repetições, sendo cada uma composta por cinco tubos de ensaio e cada tubo contendo um explante. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Programa Sisvar (FERREIRA, 1999). Os dados foram submetidos à análise de variância e os modelos de regressão ajustados e testados a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1 verifica-se o resumo da análise de variância para os fatores avaliados. Para todos os fatores avaliados, a interação entre as concentrações de sais e de sacarose no meio MS foram não significativas ($P > 0,05$).

Na germinação in vitro de sementes de pimentão, as diferentes concentrações de sais e sacarose no meio de cultivo apresentaram diferenças significativas entre si ($P < 0,05$). O meio com maior concentração de sais (MS 100%) possibilitou a maior germinação de sementes de pimentão (55%), enquanto no meio com metade da concentração de sais a germinação das sementes foi de apenas 44%. Entre as diferentes concentrações de sacarose, por meio da análise de regressão, pode-se observar um efeito linear significativo (Gráfico 1A), em que a porcentagem de germi-

nação foi inversamente proporcional ao aumento na concentração de sacarose, sendo que a maior taxa de germinação (62,5%) foi obtida quando as sementes foram cultivadas na ausência de sacarose.

Em relação ao número de folhas formadas por plântulas, as concentrações de sais no meio de cultivo não exerceram influência sobre o número de folhas. Quanto à concentração de sacarose, foi observado um efeito linear significativo, ou seja, o número médio de folhas aumentou significativamente com o aumento da concentração de sacarose no meio (Gráfico 1B). O número de folhas variou de 2 a 3,33, com média de 2,84 folhas por plântulas.

O comprimento da parte aérea e da raiz apresentou o mesmo comportamento, sendo que o meio MS 100% foi mais eficiente na promoção do crescimento in vitro das plântulas de pimentão. Em relação às diferentes concentrações de sacarose, observou-se o efeito linear significativo, em que as maiores concentrações de sacarose proporcionaram o maior crescimento das plântulas (Gráficos 1C e 1D).

QUADRO 1 - Resumo da análise de variância para as características germinação (G), número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR)

Fontes de variação	GL	Quadrado médio			
		G	NF	CPA	CR
Concentração de sais (CS)	1	(1)1210,00	0,08ns	(1)1,63	(1)1,39
Concentração de sacarose (Sac)	4	(1)685,00	(1)2,62	(1)1,82	(1)2,99
CS x Sac	4	35,00ns	0,33ns	0,20ns	0,11ns
Erro	30	183,33	0,41	0,38	0,28
Total	39	-	-	-	-
Média geral		49,50	2,84	4,62	5,32
CV (%)		27,35	22,56	13,37	10,05

NOTA: ns - F não significativo a 5% de probabilidade; GL - Graus de liberdade; CV - Coeficiente de variação.
(1)F significativo a 5% de probabilidade.

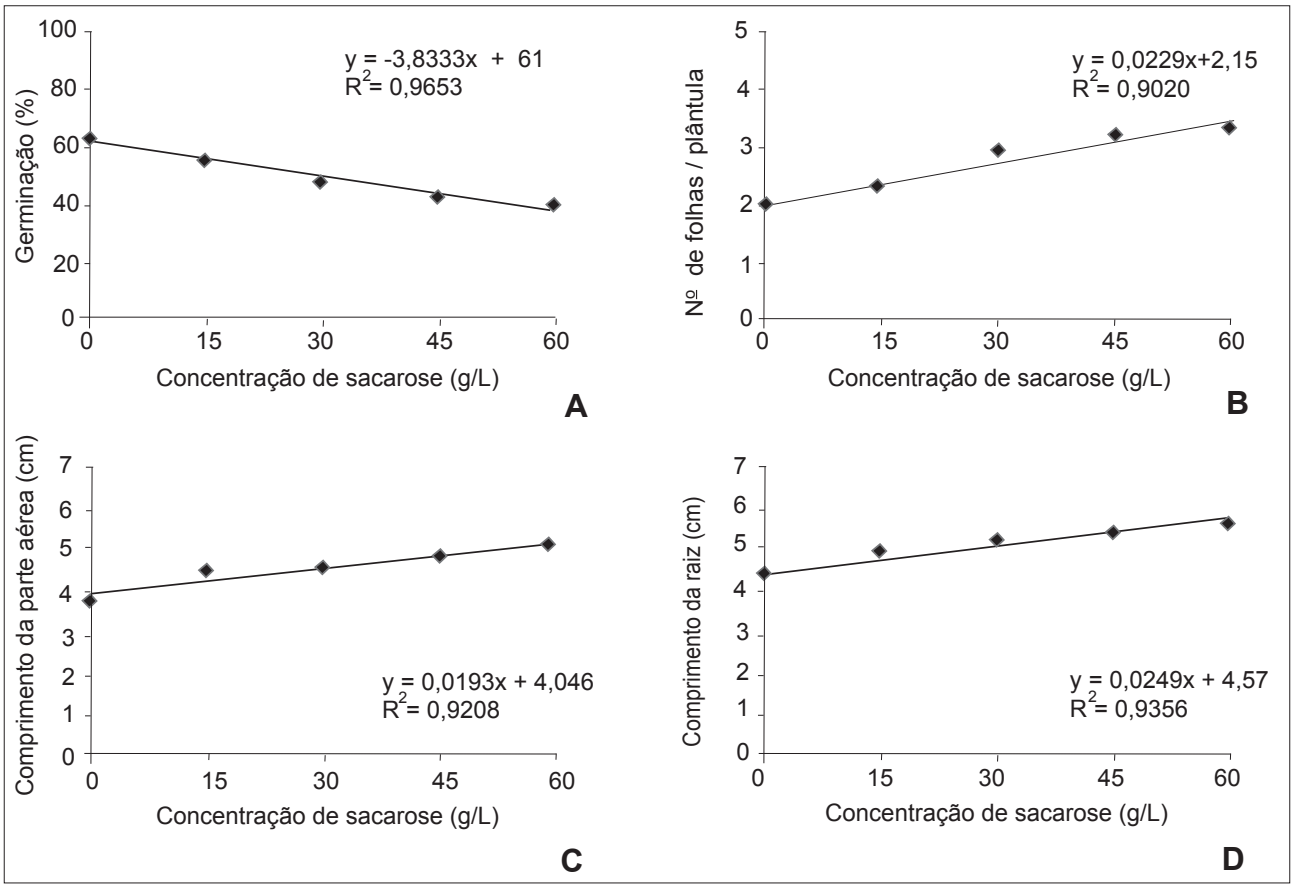
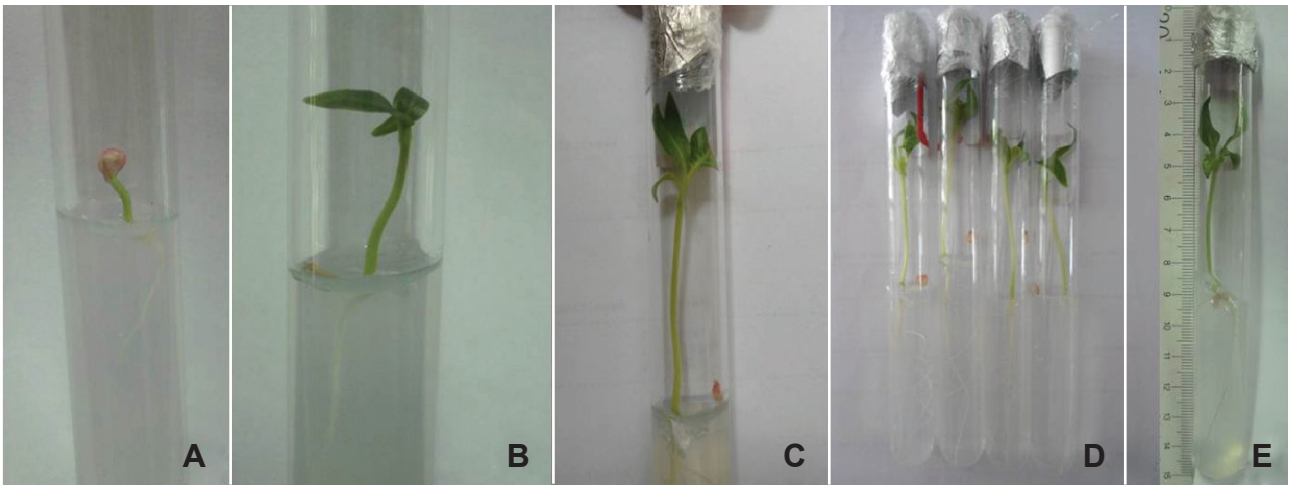


Gráfico 1 - Cultivo in vitro de pimentão cv. Cascadura Ikeda, em diferentes concentrações de sacarose no meio MS
NOTA: Gráfico 1A - Germinação in vitro de sementes de pimentão; Gráfico 1B - Número de folhas por plântulas de pimentão; Gráfico 1C - Comprimento da parte aérea de plântulas de pimentão; Gráfico 1D - Comprimento da raiz de plântulas de pimentão.

Ao estudarem a germinação in vitro em sementes de murici-pequeno, Nogueira et al. (2004) concluíram que a presença de sacarose ocasionou uma considerável redução na germinação. E que provavelmente, a concentração dos sais no meio de cultivo, juntamente com a sacarose, afetou o balanço osmótico, prejudicando o processo germinativo. Entretanto, quando se utilizam meios com metade das concentrações de sais e na presença de sacarose, não são observadas mudanças consideráveis na taxa de germinação. Resultados semelhantes também foram encontrados por Pinheiro et al. (2001), ao avaliarem a germinação in vitro de sementes de mangabeira.

Sementes de pimentão necessitam de concentrações baixas ou mesmo ausência de sacarose para as melhores taxas de germinação, apesar de necessitarem de concentrações superiores para sustentar o posterior crescimento das plântulas (Fig. 1). Este fato pode ser corroborado por Pereira et al. (2006), que verificaram que os embriões de murmuru (*Astrocaryum ulei*), em estádio maduro, necessitam de concentrações inferiores a 15 g/L para uma maior taxa de germinação.



Fotos: Emanuelle Ferreira Melo

Figura 1 - Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de pimentão cv. Cascadura Ikeda, cultivadas in vitro
NOTA: A - Semente germinada aos 7 dias de cultivo; B - Plântulas aos 14 dias de cultivo; C - Aos 21 dias; D e E - Aos 30 dias de cultivo.
MS - Murashige & Skoog.

REFERÊNCIAS

ASSIS, M. de. Novas tecnologias na propagação de batata. **Informe Agropecuário**. Batata: produtividade com qualidade, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.30-33, mar./abr. 1999.

BRUCK, D.K.; WALKER, D.B. Cell determination during embryogenesis in *Citrus jambhini* - II: epidermal differentiation as out-time event. **American Journal of Botany**, v.72, p.1602-1609,1985.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA-CNPH, 1998. p.87-132.

FERREIRA, D.F. **Sistema para análise de variância para dados balanceados (SISVAR)**. Lavras: UFLA, 1999. 92p.

FLETCHER, P.J.; FLETCHER, J.D. In vitro virus elimination in three Andean root crops: oca (*Oxalis tuberosa*), ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) and arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Auckland, v.29, n.1, p.23-27, 2001.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. 2nd ed. Edington: Exegetics, 1996. Part 2: In practice.

MACIEL, A.L. de R.; SILVA, A.B. da; PASQUAL, M. Aclimatação de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas in vitro: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.9-12, 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Helsing, v.15, n.3, p.473-497, July 1962.

NOGUEIRA, R.C. et al. Germinação in vitro de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A.Juss). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.5, p.1053-1059, set./out. 2004.

PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P. **Cultura de embriões**. Piracicaba: ESALQ, 1988. 13p.

PEREIRA, J.E.S. et al. Germinação in vitro de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.251-256, 2006.

PINHEIRO, C.S.R. et al. Germinação in vitro de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.413-416, ago. 2001.

RIBEIRO, V.G. et al. Estádios de desenvolvimento embrionário e localização do embrião zigótico em sementes de citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.8, p.1327-1333, ago. 1999.