



FL-07031

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental
Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/n, Caixa Postal 48,
Telex (091) 1210, Fax: (091) 226.9845 - CEP 66.095-100
e-mail: cpatu@cpatu.embrapa.br

PESQUISA EM ANDAMENTO

Nº 208, Dezembro, p.1-3 -1998

CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIÃO DE PIMENTA-DO-REINO PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS

Oriel Filgueira de Lemos¹
Marli Costa Poltronieri¹
Ilmarina Campos de Menezes²
Osmar Alves Lameira³
Maria de Lourdes Reis Duarte³

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é um dos principais produtos agrícolas de exportação e fonte de divisa para a região amazônica. Dentre os estados da Região Norte, o Pará é o maior produtor nacional, contribuindo com cerca de 90% da produção. Além do Pará, o cultivo desta especiaria vem sendo explorado nos Estados do Espírito Santo, Bahia e Minas Gerais.

O principal problema agrônômico da cultura é a doença fusariose (*Fusarium solani* f. sp. *piperis*), que causa sérios prejuízos, com reflexos na produtividade e ciclo econômico. Os programas de melhoramento genético no Brasil, visando a solução deste problema, não têm avançado devido à estreita variabilidade genética dos materiais trabalhados e pela dificuldade de se introduzir germoplasma, como fonte de resistência, do centro de origem (Índia). As cultivares lançadas, apesar de produtivas, são susceptíveis.

Na Índia, através de polinizações controladas em 1967 foi lançada a cultivar Pannyur-1, que produz quatro vezes mais que os materiais tradicionais usados, em condições semelhantes de cultivo e manejo. Na Amazônia, algumas espécies do gênero *Piper* (*Piper colubrinum*, *P. attenuatum*) têm apresentado resistência à doença e podem ser usados como fontes de resistência em programas de melhoramento.

A cultura de embrião, uma aplicação das técnicas de cultura de tecidos, permite recuperar híbridos raros de cruzamentos incompatíveis; superar dormência e esterilidade de sementes, estudar os aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento do embrião, desenvolver métodos de micropropagação e testar viabilidade de sementes.

¹Eng. - Agr., M.Sc., Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66 017-970, Belém, PA.
Embrapa Amazônia Oriental.
a Amazônia Oriental.



O objetivo desta pesquisa é regenerar plantas de pimenta-do-reino a partir da cultura de embrião, visando a produção de híbridos de cruzamentos controlados. A hipótese a ser testada será que através de ajuste na composição dos meios nutritivos, condições de cultivo e seleção de estágio de desenvolvimento do embrião seja possível obter a regeneração de plantas de pimenta-do-reino.

Embriões em diferentes estádios de desenvolvimento serão obtidos a partir da coleta das sementes com diferentes períodos de formação após a antese. Neste caso, as sementes serão submetidas a tratamento de assepsia com álcool 70% (v/v), hipoclorito de sódio 2% (v/v) e várias lavagens com água destilada esterilizada. Em seguida serão inoculadas em diferentes meios de cultura. Inicialmente será testado o meio de cultura de Murashige & Skoog (MS) suplementado com diferentes concentrações de aditivos (maltose 2% e 3%) e reguladores de crescimento (ácido giberélico GA₃ 0,1 a 10,0 mg.L⁻¹, ácido 2,4-diclorofenoxiacético 2,4-D 0,1 a 10,0 mg.L⁻¹, ácido indolilacético AIA 0,1 a 10 mg.L⁻¹ e ácido naftalenoacético ANA 0,1 a 10 mg.L⁻¹, em estado líquido sob agitação (30 a 100 rpm) ou semi-sólido (ágar 0,7 a 2,0%). As condições de cultivo serão na ausência de luz e a 25 μmol.cm⁻².s⁻¹, temperatura de 26±1°C e fotoperíodo, quando for o caso, de 16 h luz/dia. As transferências para os meios de cultura frescos ocorrerão de quatro a seis semanas e serão avaliadas as respostas dos embriões sob os efeitos dos diferentes meios de cultura quanto ao tempo para início da germinação (emissão da radícula), início para desenvolvimento do caulículo, formação de plântulas, taxa de formação de plântulas, altura de plântulas. Os híbridos produzidos serão clonados e colocados à disposição dos fitomelhoristas para posterior avaliação quanto ao desenvolvimento da planta, características agrônômicas e resistência a doenças.

Sementes obtidas de cultivares de *Piper nigrum*, com diferentes estádios de maturação pós-fecundação foram coletadas aos 36, 51, 66, 81, 96 e 111 dias após a antese. Foram submetidas a tratamento de assepsia e semeadas *in vitro* em meios de cultura MS, modificado com adição de 0,1% de carvão ativado e 0,17 g.L⁻¹ de NaH₂PO₄, suplementados com ANA, BAP, 2,4-D, GA₃, AIA e ANA x BAP na concentração de 1,0mg.L⁻¹ de cada regulador de crescimento. As sementes coletadas aos 36 a 66 dias não germinaram e tornaram-se escurecidas após 60 dias de cultivo. Enquanto que as sementes coletadas aos 81, 96 e 111 dias após a antese iniciaram processo de germinação aos 40, 35 e 50 dias, respectivamente. Ressalte-se que nas sementes com 96 dias pós-antese, destacaram-se na precocidade de germinação e, aos 40 dias, apresentaram plântulas quando semeadas no meio de cultura com GA₃ (50% de formação de plântulas) e com ANA x BAP (10% de formação de plântulas). Entretanto, as sementes coletadas aos 111 dias após a antese, o processo de germinação foi mais tardio (50 dias), mas foram mais aptas a desenvolverem plântulas que nos outros estádios de maturação (36, 51, 66, 81 e 96 dias).

Nesta primeira etapa do trabalho, concluiu-se que o estágio de maturação da semente é fator determinante no desenvolvimento de plântulas e que a partir de 81 dias após a antese estão aptas a formarem plântulas em meio MS modificado, principalmente com GA₃ e BAP x ANA a 1,0 mg.L⁻¹ de cada regulador de crescimento. Supõe-se que essa metodologia auxiliará na obtenção de híbridos intra e interespecíficos em espécies do gênero *Piper*.

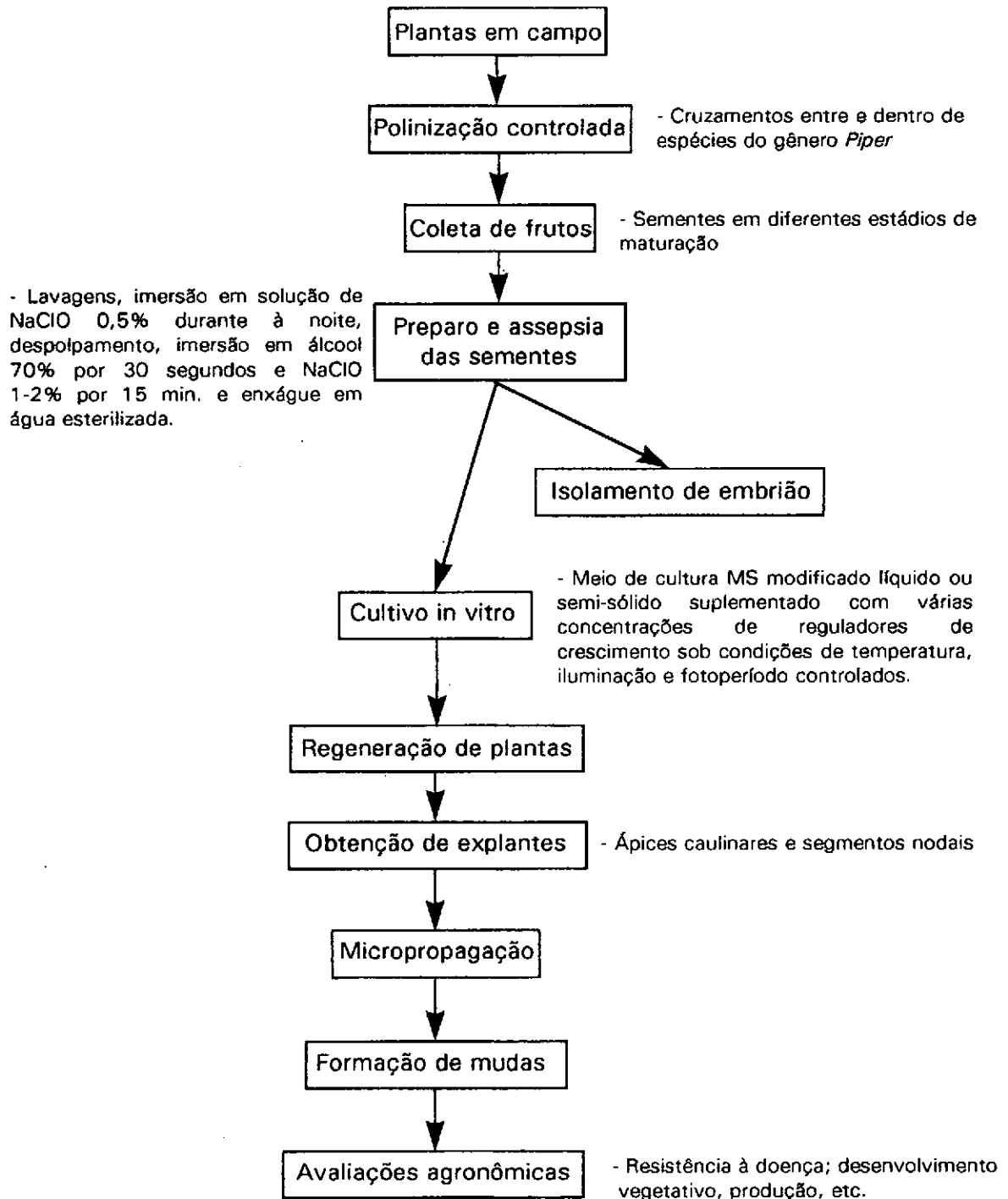


FIG. 1. Metodologia para regeneração de plantas de pimenta-do-reino a partir do cultivo *in vitro* de embrião.