

Efeito da adição de água de coco em culturas de calos de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.)

Ana da Silva LEDO¹; Osmar Alves LAMEIRA²; Abdellatif K. BENBADIS³; Elisa Ferreira MOURA²

¹Embrapa Acre, caixa postal 392, CEP 69901-180, Rio Branco-AC, E-mail: analedo@uol.com.br;

²Embrapa Amazônia Oriental, caixa postal 48, CEP 66017-970, Belém-PA; ³Universidade Federal do Ceará, Campus do PICI, Departamento de Fitotecnia, CEP 60020-181, Fortaleza-CE.

Introdução

O aumento do potencial de exploração sócio econômica de espécies frutíferas nativas da região Amazônica tem sido crescente nos últimos anos. Dentre diversas espécies destaca-se o cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.), tendo em vista as diferentes possibilidades de uso e o grande potencial de comercialização de produtos e subprodutos no mercado nacional e internacional. Entretanto, a utilização de técnicas de propagação inadequadas e a ausência de material genético melhorado, têm contribuído negativamente para a exploração racional e econômica desta espécie.

Informações sobre a propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro são bastante escassas. Os estudos tem sido, quase que exclusivamente, direcionados para o cacau (*Theobroma cacao* L.), que apresenta grande impacto econômico no mercado internacional. O cacau tem apresentado uma certa recalcitrância para a multiplicação por embriogênese somática.

Alguns trabalhos tem demonstrado a capacidade de indução de embriogênese somática indireta, a partir de diversos explantes, com a adição de água de coco no meio de cultura. Janick e Whipkey (1988) obtiveram a produção de calos embriogênicos a partir de embriões zigóticos imaturos de cupuaçuzeiro cultivados em meio MS suplementado com 10 % de água de coco e 1 mg.L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Li et al. (1998) e Marbach e Teixeira (1999) obtiveram a regeneração de plântulas de cacau, a partir de calos embriogênicos induzidos de estaminóides cultivados em meio DKW com 5% de água de coco, suplementado com 2,4-D na presença ou ausência de tidiazuron (TDZ), respectivamente.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da adição de água de coco no meio de cultura secundário sobre calos friáveis iniciados a partir de vários explantes de cupuaçuzeiro.

Metodologia

As culturas de calos friáveis iniciadas a partir de eixos embrionários e segmentos foliares e caulinares em meio primário ou indutor, foram repicadas para meio secundário com o objetivo de induzir a iniciação de estruturas pró-embriogênicas e de embriões somáticos.

As culturas foram inoculadas em erlenmeyers com capacidade de 100 ml, contendo 40 ml de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) com 0,7 % de ágar e 2 % de glicose. Foram testados os seguintes tratamentos: meio MS; meio MS + água de coco (AC); meio MS + AC + 2,69 µM de ácido naftalenoacético-ANA + 12,30 µM de isopenteniladenina-2iP; meio MS + AC + 5,37 µM de ANA + 12,30 µM de 2iP; meio MS + AC + 8,06 µM de ANA + 12,30 µM de 2iP e meio MS + AC + 10,74 µM de ANA + 12,30 µM de 2iP. A água de coco foi adicionada aos meios na concentração de 100 ml.L⁻¹.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura variando de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar média em torno de 70%, sob fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria indireta ($6 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de irradiância) / oito horas de escuro.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo cada unidade experimental constituída de cinco frascos contendo um explante cada.

Resultados e Discussão

Não foram observadas até os 120 dias de inoculação, a indução de calos embriogênicos nos diferentes tratamentos testados. Entretanto, aos 10 dias de cultura, verificou-se o rápido crescimento dos calos com aspecto friável e de coloração verde clara.

Nas culturas iniciadas a partir de eixos embrionários houve maior percentagem de progressão dos calos, nos diferentes tratamentos testados, quando comparados com segmentos caulinares e segmentos de folhas jovens (Tabela 1).

Não foi verificado o crescimento dos calos friáveis em meio MS na ausência de água de coco e de reguladores de crescimento, ocorrendo um rápido escurecimento das culturas. Em contrapartida, nos eixos embrionários, na presença de água de coco, houve a progressão dos calos, sendo potencializada em meio suplementado com ANA e 2iP (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Pence et al. (1979), que observaram o aumento do crescimento de calos de *Theobroma cacao* L. em meio MS suplementado com 10 % de água de coco. O efeito estimulatório da água de coco pode ser explicado pelo fato deste aditivo ser rico em glicose e frutose, sais minerais, mio-inositol, citocininas, bem como nucleotídeos e outros compostos orgânicos.

TABELA 1. Respostas morfogênicas de calos friáveis iniciados em meio primário a partir de eixos embrionários, segmentos de folhas jovens e segmentos caulinares de *Theobroma grandiflorum*, cultivados em meio secundário MS suplementado com água de coco (AC); 2iP e diferentes concentrações de ANA, aos 30 dias de cultura. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2001

| Tratamentos | Eixos embrionários | Segmentos de folha jovem | Segmentos caulinares |
|---|---------------------------------|-----------------------------|----------------------|
| | % de explantes com calo friável | | |
| MS | 0 | 0 | 0 |
| MS + AC | 26,5 | 0 | 0 |
| MS + AC + 2,69 μM ANA + 12,30 μM 2iP | 50,0 | 37,5 | 0 |
| MS + AC + 5,37 μM ANA + 12,30 μM 2iP | 62,0 | 33,3 | 0 |
| MS + AC + 8,06 μM ANA + 12,30 μM 2iP | 44,4 | 12,5 | 0 |
| MS + AC + 10,74 μM ANA + 12,30 μM 2iP | 43,0 | 0 | 37,5 |

Para os eixos embrionários, apesar de não terem sido detectadas diferenças significativas entre os níveis de ANA, uma maior percentagem de progressão de calos friáveis foi observada com 5,37 μ M de ANA (62 %), havendo uma tendência a redução na frequência de calos com o aumento da concentração de ANA (Tabela 1).

Conclusões

A adição de água de coco, 2iP e ANA no meio secundário promove o rápido crescimento e progressão de calos friáveis em culturas de eixo embrionário de segmento caulinar e de segmentos de folhas jovens, mas não induz culturas embriogênicas.

Referências bibliográficas

- JANICK, J.; WHIPKEY, A. Somatic embryogenesis in *Theobroma grandiflorum*. **HortScience**, Alexandria, Virginia, v.23, p.807, 1988.
- LI, Z.J.; TRAORE, A.; MAXIMOVA, S. et al. Somatic embryogenesis and plant regeneration from floral explants of cacao (*Theobroma cacao* L.) using thidiazuron. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Oxon, United Kingdom, v.34, n.4, p.293-299, Oct.-Dec. 1998.
- MARBACH, P.A.S.; TEIXEIRA, J.B. Regeneração de plantas de cacau (*Theobroma cacao* L.) via embriogênese somática. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.11 (supl.), p.168-169, jun.1999.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, Mar. 1962.
- PENCE, V.C.; HASEGAWA, P.M.; JANICK, J. Asexual embryogenesis in *Theobroma cacao* L. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, New York, v.104, n.2, p.145-148, 1979.