

# **OBTENÇÃO DE PLANTAS DOADORAS DE EXPLANTES PARA O DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE MICROPROPAGAÇÃO DE CUPUAÇUZEIRO**

**CARDOSO**, Joseane de Nazaré Oliveira<sup>1</sup>; **LEMOS**, Oriel Filgueira de<sup>2</sup>; **ALVES**; Rafael Moisés<sup>3</sup>.

## **INTRODUÇÃO:**

O cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Wild. Ex Spreng) Schumm é uma espécie nativa da Amazônia que, apesar da importância econômica que representa para a fruticultura da região, ainda depende de ajustes no seu sistema produtivo, para ser considerada uma espécie domesticada. Como outras espécies de origem amazônica, teve seu processo de domesticação possivelmente iniciado pelos índios, sendo uma das fruteiras mais comumente encontradas nas tribos da Amazônia Oriental que praticavam a agricultura (Kerr & Clemente, 1980).

O cultivo do cupuaçuzeiro no Estado do Pará é caracterizado por pequenos plantios solteiros e/ou consorciados, dispersos no Nordeste Paraense (Tomé-açú, Acará, Castanhal, entre outros) mas, como cultivo de fundo de quintal, está presente em todo o Estado. A produção Estadual está primeiramente voltada para a obtenção de polpa, da qual vários subprodutos são obtidos. Esta obtenção de polpa é feita a partir de uma base produtiva que ainda não utiliza material genético selecionado, que somado às inconsistências das outras etapas do sistema de produção, beneficiamento e comercialização, resulta em uma cadeia produtiva com maior probabilidade de insustentabilidade.

Uma agente que contribui para essa situação é a doença conhecida como vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, que vem dizimando as plantações das principais zonas produtoras, servindo como desestímulo para a implantação de novas áreas. Para que as cultivares ou clones selecionados com tolerância a vassoura-de-bruxa possam, efetivamente, ser incorporados ao sistema de produção, será necessário um sistema de propagação de plantas que viabilize o uso pelos agricultores. A utilização de material tolerante deverá promover redução dos custos de produção, pela eliminação das etapas de combate a doença como poda dos ramos afetados, remoção dos ramos podados do pomar e destruição dos mesmos, tornando a atividade mais lucrativa e com menos risco para o produtor (Alves & Cruz, 2003). Por tudo isso, o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de mudas através da aplicação das técnicas de cultura de tecido para cupuaçuzeiro, a fim de viabilizar a adoção imediata dos principais clones selecionados para a tolerância à doença da vassoura-de-bruxa. Nesta primeira buscou-se produzir plantas *in vitro* a partir de sementes para serem usadas como fornecedoras de explantes.

<sup>1</sup> Estagiária PIBIC/CNPq/EMBRAPA. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

<sup>2</sup> Orientador/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

<sup>3</sup> Responsável/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

## **MATERIAL E MÉTODOS:**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA.

No 1º experimento, foi utilizado o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com 5 tratamentos e 67 repetições para cada tratamento. Inicialmente, a partir de plantas adultas foi feita a coleta de frutos maduros para obtenção das sementes através do despoldamento manual com o auxílio de uma tesoura. No primeiro teste de assepsia as sementes foram lavadas com água esterilizada (3-5 x), a partir das quais, em câmara de fluxo laminar asséptica, foram excisados os embriões e submetidos a assepsia através da imersão em álcool a 70% por 1 minuto e em NaClO a 1% por 15 minutos e lavagens em água esterilizada por cinco vezes, enquanto no segundo teste, as sementes foram lavadas em água corrente e imersas em NaClO a 0,5% por cerca de duas horas. Em seguida, após a retirada do tegumento, parte da semente com o embrião foi transferida para frasco autoclavado com solução de 100 ml de ácido cítrico a 50mM, para evitar a oxidação. Procedeu-se a desinfestação em câmara de fluxo laminar, com imersão em álcool etílico a 70% por 1 minuto, e em seguida em solução composta por NaClO 1% com algumas gotas de Tween 80, por 15 minutos sob agitação e lavagem por 5 vezes em água destilada e autoclavada. Os embriões foram excisados e inoculados em tubos de ensaio. O delineamento utilizado para este experimento foi Inteiramente Casualizado com 6 tratamentos contendo 80 repetições para cada tratamento. Para o primeiro processo de assepsia:

T1: Ágar (0,6%);

T2: Ágar (0,6%) + ½ MS (Murashige; Skoog, 1962);

T3: Ágar (0,6%) + MS Completo;

T4: Ágar (0,6%) + MS + 0,17 g/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;

T5: Ágar (0,6%) + ½ MS + 0,17 g/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

Para o segundo processo de assepsia:

T1: Ágar (0,6%);

T2: Meio MS Completo

T3: Meio MS Completo + NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;

T4: Meio MS Completo + Carvão Ativado;

T5: Meio MS Completo + Carvão Ativado + NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;

T6: Vermiculita (60 g + 20 ml de H<sub>2</sub>O).

<sup>1</sup> Estagiária PIBIC/CNPq/EMBRAPA. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

<sup>2</sup> Orientador/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

<sup>3</sup> Responsável/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

O pH dos meios de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem durante 15 minutos, bem como a vermiculita foi previamente autoclavada por 40 minutos, à temperatura de 120°C. As condições de cultivo foram em sala de cultura com temperatura  $26 \pm 2^\circ \text{C}$ , umidade a 70% e fotoperíodo de 16 h de luz branca fria ( $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^1$  de irradiância) por 8 h no escuro.

Durante o período de cultivo foram realizadas observações quanto a contaminação e variáveis de lançamento da parte aérea, ocorrência ou não de raiz, desenvolvimento de folhas, número de folhas, número de raízes, oxidação, mortalidade e comprimento da plântula, cujos dados foram analisados estatisticamente.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO:**

Os embriões cultivados provenientes do primeiro processo de assepsia apresentaram elevada taxa de contaminação não permitindo avaliar o efeito dos meios de cultura.

Os embriões provenientes a partir do segundo processo de assepsia desenvolveram e formaram plântulas.

Na primeira semana, após a inoculação, os cotilédones apresentavam-se intumescidos e com coloração esverdeada. Aos 10 dias, observou-se o lançamento da radícula com rápido crescimento e depois o desenvolvimento de raízes secundárias. A partir da quarta semana ocorreu o surgimento do epicótilo e dos pares cotiledonares, e a formação do gancho epicotilar. A elongação do gancho epicotilar, a formação do primeiro par de folhas, que se apresentavam cobertas com pêlos e com coloração lilás-avermelhada, foram verificadas a partir da quinta semana. Aos 60 dias, após a inoculação, as plântulas apresentavam o primeiro par de folhas com limbo bem desenvolvido e com coloração esverdeada. Estas fases descritas acima concordam com as observadas por Venturieri (1993). Resultados semelhantes foram obtidos por Castro et al. (2001) com embriões de Murici (*Byrsonima intermedia* A. Juss).

O substrato meio MS + Carvão Ativado promoveu maior porcentagem de conversão de embriões zigóticos em plântulas (86,75%) quando comparado com a Vermiculita (68,1 %), conforme a Tabela 1. Estes resultados discordam dos obtidos por Lessa (1998) & Lopes (2000) que obtiveram maiores porcentagens de germinação em sementes de Mogno (*Swietenia macrophylla*) e de Macieira (*Malus*

<sup>1</sup> Estagiária PIBIC/CNPq/EMBRAPA. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

<sup>2</sup> Orientador/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

<sup>3</sup> Responsável/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

*domestica*), respectivamente, em Vermiculita quando comparado com Ágar. A incidência de 31,9% de contaminação, quando os embriões foram inoculados em Vermiculita, contribui para a menor emergência das plântulas.

<sup>1</sup> Estagiária PIBIC/CNPq/EMBRAPA. Acadêmica do 3º semestre do curso de Agronomia.

<sup>2</sup> Orientador/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

<sup>3</sup> Responsável/ Dr. em Genética e Melhoramento de Plantas.

Tabela 1. Quadro da análise da variância

C. VARIAÇÃO	G.L	Q.M	F
	4	0,0407	1,16 NS
	28	0,0352	
Total	32		

ESVIO PADRÃO = 0,1877 MEDIA GERAL = 1.0450 COEF. DE VARIAÇÃO = 17.9629

### CONCLUSÃO:

É possível a conversão *in vitro* de embriões zigóticos, isolados de sementes em completo estágio de maturação fisiológica, em plântulas completas e normais;

O meio de cultura com adição de carvão ativado é adequado para a formação de plântula de cupuaçuzeiro *in vitro* a partir da cultura de embriões.

### BIBLIOGRAFIA:

KERR, W. E.; CLEMENTE, C. R. Práticas agrícolas de conseqüências genéticas que possibilitam aos índios da Amazônia uma melhor adaptação as condições ecológicas da região. **Acta Amazônica**, v. 9, p. 392-4000, 1980.

BARBOSA, W. C.; NAZARÉ, R. F. R.; NAGATA, I. **Estudos tecnológicos de frutas da Amazônia**. Belém: EMBRAPA, CPATU, 1978. 19p. (Comunicado técnico 3).

ALVES, R. M.; STEIN, R. L. B.; ARAÚJO, D. G. de; PIMENTEL, L. Avaliação de clones de cupuaçuzeiro quanto à resistência a vassoura-de-bruxa. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Vol. 20, n. 3, p. 297-306, 1998 e.

CRUZ, E. D.; ALVES, R. M.; BENCHIMOL, R. L. **Avaliação de clones de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Wild ex Spreng) Schumm) quanto a tolerância à vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)**. Belém: EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 2000. 4p (Comunicado técnico, 28).

CRUZ, C. D. **Algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. Piracicaba: ESALQ, Dpto. Genética, 1987. 75p.

CASTRO, A. H. F.; ALVARENGA, A. A. De; PAIVA, R., GOMES, G. A. C.; SANTOS, C. G. dos Cultivo *in vitro* de embriões de Murici (*Byrsonima intermedia* A. Juss). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2001, Ilhéus . Anais... São Carlos: SBVF/ UESC; Ilhéus: CEPLAC – CEPEC, 2001.Seção 8-027.1-CD-ROOM.

VENTURIERI, G. A. Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento. Belém: Clube do Cupu, 1993. 108p.

LESSA, A. O. Utilização de microenxertia para obtenção de plantas de *Malus domestica* Borkh livres do vírus da mancha clorótica das plantas de macieira. 1998. 56p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1998.

LOPES, S. C. Micropropagação do Mogno (*Swietenia macrophylla* King). 2000. 54 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Pelotas, 2000.