

CULTURA *IN VITRO* DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DO COQUEIRO

Paula Cristina da S. Angelo¹
Wilson Menezes Aragão²
Evandro Almeida Tupinambá³

Os primeiros trabalhos com a cultura *in vitro* do coqueiro foram realizados com embriões zigóticos (Cutter & Wilson, 1954; Abrahams & Thomas, 1962 e Ventura et al., 1966). Esta metodologia pode ser usada para coleta, intercâmbio e conservação de germoplasma e para propagação de híbridos raros, como o coqueiro Makapuno, que não germina naturalmente, ou, ainda, segundo Karunaratne et al. (1991), para realizar "screening" *in vitro*, buscando germoplasma adaptado à seca.

No CPATC, protocolos para a cultura *in vitro* de embriões zigóticos têm sido aplicados com algum sucesso. A germinação *in vitro* tem sido alcançada, embora de maneira descontinuada e pouco sistemática, restando encontrar procedimentos ideais para melhorar a adaptabilidade das plântulas às condições naturais de cultivo (Siqueira et al., 1994). As perdas de indivíduos na etapa de aclimação têm ocorrido principalmente devido às dificuldades em induzir o estabelecimento de um sistema radicular eficiente o bastante para garantir a sobrevivência (Assy Bah et al., 1989; Ashburner et al., 1993).

Este trabalho tem como objetivos o desenvolvimento de protocolos para a germinação *in vitro* de embriões zigóticos de diferentes genótipos do coqueiro e a aclimação das plântulas obtidas. Estas técnicas serão úteis para facilitar o intercâmbio de germoplasma, especialmente porque embriões não precisam, necessariamente, passar por quarentena antes da introdução no país e também porque o custo de transporte de embriões é muito menor que o custo do transporte de frutos do coqueiro.

Os embriões foram retirados, durante os meses de junho e julho de 1998, de frutos com idade aproximada de 11 meses a 12 meses, que apresentavam os primeiros sinais de perda da cor do epicarpo, coletados na Sede do CPATC. Os genótipos testados neste experimento são o híbrido PB 121 (cruzamento entre o anão-amarelo-da-malásia e o gigante-do-oeste-africano), o anão-vermelho-da-malásia e o anão-verde-do-brasil.

¹ Bióloga, M.Sc., Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, CEP 49001-970, Aracaju, SE. paula@cpatc.embrapa.br

² Eng.-Agr., Dr., Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, CEP 49001-970, Aracaju, SE.

³ Eng.-Agr., M.Sc., Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, CEP 49001-970, Aracaju, SE.

Estão sendo utilizados dois métodos para a cultura de embriões *in vitro*. No primeiro caso (método 1), os embriões estão sendo cultivados em meio nutritivo de Murashige & Skoog (1962) (meio MS), suplementado com vitaminas de Morel & Wetmore (1951), 60 g/litro de sacarose, 2,5 g/litro de carvão ativado e 8 g/litro de ágar. O segundo método (método 2) testado é a utilização de MS, suplementado com as vitaminas de Morel & Wetmore, 20 g/litro de sacarose e com o ácido naftalenacético a partir da vigésima semana de cultivo, para garantir o enraizamento das plântulas. Nos dois casos, os embriões são devidamente submetidos à assepsia antes da inoculação no meio e mantidos no escuro, a uma temperatura de 28°C a 34°C, até a germinação, e em seguida transferidos para ambiente com fotoperíodo de 12 horas e luminosidade de cerca de 40 $\mu\text{mol} \times \text{m}^2 \times \text{seg}$. A excisão dos haustórios tem sido feita como medida para minimizar as perdas durante a aclimação. Estão sendo analisados a taxa de contaminação, a taxa de oxidação, a taxa de germinação e qual o tecido do embrião que primeiro emerge (parte aérea ou raízes) e a taxa de sobrevivência durante a aclimação.

Os resultados parciais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados parciais dos experimentos de cultura *in vitro* de embriões zigóticos de coqueiro. Aracaju, 1998.

| Genótipo | Embriões inoculados | Método | Oxidados | Contaminados | Germinados |
|----------|---------------------|--------|----------|--------------|------------|
| PB 121 | 29 | 2 | 7 | 6 | 0 |
| PB 121 | 30 | 1 | 4 | 4 | 7 |
| AVM | 11 | 2 | 4 | 4 | 3 |
| AVM | 15 | 1 | 0 | 9 | 4 |
| AVeB | 17 | 1 | 3 | 0 | 7 |

De uma maneira geral, o AVM mostrou-se o genótipo com o pior desempenho *in vitro*, apresentando alto índice de contaminação e oxidação. Quanto aos métodos testados, o de número 1, em que os embriões são inoculados em meio com 60 g/l de sacarose, parece ser, até o momento, o mais efetivo na produção de plântulas do coqueiro. Para a maioria dos embriões que germinou pelo método 1 ocorreu com o lançamento da raiz e em seguida da parte aérea. Em poucos casos, houve o lançamento apenas da parte aérea. No momento, existem pelo menos 12 plântulas com formação equilibrada de tecido fotossintetizante e radicular. Alguns embriões não apresentaram sinais de contaminação ou oxidação e, no entanto, também não passaram além do primeiro sinal de resposta à inoculação *in vitro* que é o intumescimento dos tecidos.

Os próximos passos do experimento serão a transferência para o solo das plântulas que apresentarem pelo menos uma folha aberta e crescida (cerca de 20cm) e raízes principais com pelo menos 3cm. Nesta etapa, vão ser testados dois tipos de substrato. Serão, ainda, nos próximos meses, testados dois protocolos distribuídos pelo International Coconut Genetic Resources Network (COGENT), em experimentos realizados simultaneamente em 12 países.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ABRAHAMS A.; THOMAS JK. A note on the in vitro culture of excised coconut embryos. **Indian Coconut Journal** v.15, p.84-88, 1962.
- ASHBURNER, G.R.; THOMPSON, W.K.; BURCH, J.M. Effect of naphthalenacetic acid and sucrose levels on the development of cultured embryos of coconut. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.35, p.157-163, 1993.
- ASSY-BAH, B.; DURANT-GASSELIN, T.; ENGELMANN, F.; PANNETIER, C. Culture *in vitro* d'embryons zygotiques de cocotier (*Cocos nucifera* L.). **Oleagineux**, v.44, n.11, p.516-523, 1989.
- CUTTER, V.M.; WILSON, K.S. Effect of coconut endosperm and other stimulants upon the development *in vitro* of embryos of *Cocos nucifera*. **Botanical Gazette**, v.115, p.234-240, 1954.
- MOREL, G.; WETMORE, R.H. Fern callus tissue culture. **American Journal of Botany**, v.38, p.141-143, 1951.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.
- KARUNARATNE, S.; SANTHA, S.; KAVOOR, A. An *in vitro* assay for drought-tolerant coconut germplasm. **Euphytica**, v.53, p.25-30, 1991.
- SIQUEIRA, E.R.; RIBEIRO, F.E.; ARAGÃO, W.M. Melhoramento Genético do coqueiro. In: FERREIRA, J.M.S.; WARWICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A., Eds. **A Cultura do Coqueiro no Brasil**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1994. 309p.
- VENTURA, F.; ZUNIGA, L.C.; FIGUEIRA, J.E. A progress report on the development of coconut embryo in artificial media. **Phillippine Journal of Plant Industry**, v.31, p.81-87, 1966.

AGRADECIMENTOS

A todos os colegas que de alguma forma contribuíram para a realização desses experimentos e aos operários rurais *Eronilde do Nascimento* e *Olívio Francisco Oliveira Melo* pela ajuda indispensável.