

Efeito do manitol na conservação *in vitro* de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui^{*}.

Ledo, Ana da Silva¹; Cunha, Adriane Oliveira²; Vieira, Giuseppe Serra Seca³; Freire, Karla Cristina Santos⁴; Machado, Caroline Araújo⁵.

¹Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, CEP 49025-040, Aracaju, Sergipe, fone (79) 4009-1362, email: analedo@cpatc.embrapa.br; ²Bolsista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: aoliveiracunha@yahoo.com.br; ³Estudante de pós-graduação da UFS/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: giuseppe@cpatc.embrapa.br; ⁴Bolsista CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros/UNIT, email: karla@cpatc.embrapa.br; ⁵Estagiária UNIT/Embrapa Tabuleiros Costeiros, email: carol@cpatc.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Técnicas de cultura de tecidos têm sido aplicadas como estratégias complementares para a conservação de recursos genéticos vegetais e apresentam vantagens (Nass, 2001), como a manutenção de um grande número de acessos num pequeno espaço físico e livres dos riscos que existem em condições *ex vitro*. A conservação de plantas *in vitro* se baseia no cultivo das coleções em laboratório, a partir da técnica de cultura de tecidos (George, 1993). Nestas condições, a conservação de germoplasma *in vitro* pode ser feita a partir de mudanças no ambiente de cultivo para desacelerar ou suprimir totalmente o crescimento de células, tecidos e órgãos (Withers & Williams, 1998).

O manitol apresenta um efeito retardante no crescimento e desenvolvimento de um grande número de espécies, e é utilizado com bastante frequência na conservação *in vitro*. Normalmente, este carboidrato é adicionado ao meio, para redução do seu potencial hídrico. Assim, os cultivos são sujeitos a uma desaceleração no seu crescimento, devido a um estresse osmótico causado pela redução na absorção de água e nutrientes do meio (Fortes & Pereira, 2001).

O coqueiro é a palmeira de maior importância sócio-econômica das regiões tropicais. Os principais países produtores de coco, segundo a FAO (2007), são Filipinas (13 mil t), Indonésia (13 mil t) e Índia (9 mil t). O Brasil é atualmente o quarto maior produtor com 2.695.200 t. A Embrapa Tabuleiros Costeiros vem implementado um programa de melhoramento genético e conservação de germoplasma para a espécie há mais de 20 anos. Dessa forma o estabelecimento de técnicas alternativas e complementares de conservação torna-se prioritário. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do manitol sobre o crescimento de embriões zigóticos de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui visando a conservação *in vitro* como estratégia complementar.

METODOLOGIA

As atividades foram conduzidas no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Foram utilizados embriões zigóticos de frutos maduros, com 11 a 12 meses após a fertilização, de coqueiro anão verde do Brasil de Jiqui (AVeBrJ) proveniente do Banco Ativo de Germoplasma de Coco da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizado no Campo Experimental do Betume, em Neópolis, SE. Cilindros de endosperma com embriões, extraídos de frutos maduros, foram submetidos a uma pré-asepsia com imersão em NaClO comercial e lavados em água potável, por três vezes, no local da coleta. Em condições assépticas, os embriões foram excisados das seções de endosperma, imersos em álcool etílico a 70% por dois minutos e, em seguida, em solução de NaClO comercial por 20 minutos sob agitação. Foram lavados quatro vezes em água destilada e autoclavada e inoculados em meio de cultura Y3 (Eeuwens, 1976) gelificado com 0,7% de agar na presença de 2,5 g L⁻¹ de carvão ativado. O manitol foi adicionado ao meio de cultura nas concentrações de 0; 0,2; 0,3 e 0,4 M. As culturas foram mantidas em sala de

^{*} Apoio Financeiro: Embrapa e CNPq; concessão de bolsa ITI: CNPq

crescimento na ausência de luz até a indução da parte aérea e, em seguida, foram transferidas para fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela experimental constituída de três tubos de ensaio com um embrião cada. Aos 125 dias de cultivo foi avaliada a percentagem de germinação dos embriões e aos 160 e 365 dias o comprimento da parte aérea e comprimento da raiz primária das plântulas e percentagem de sobrevivência das plântulas. As médias foram submetidas à análise da variância pelo teste F e, quando significativo, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise estatística dos dados, utilizou-se o programa SISVAR (Ferreira, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre as concentrações de manitol para os caracteres avaliados. Na ausência de manitol observou-se 100% de germinação e maior desenvolvimento tanto da parte aérea (1,44 cm), como da raiz (5,70 cm) (Tabela 1; Figura 1A). A adição de manitol nas concentrações estudadas promoveu uma redução na percentagem de germinação dos embriões aos 125 dias e no desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular aos 160 dias. Resultados semelhantes foram obtidos por Damasco (2002) para cultivares de coqueiro anão amarelo e coqueiro gigante.

Tabela 1. Médias da percentagem de germinação (% GERM) aos 125 dias e do comprimento da parte aérea (CPA) e do sistema radicular (CR) e percentagem de sobrevivência (% SOB) de plântulas de coqueiro AVeBrJ aos 160 e 365 dias de cultivo em meio Y3 suplementado com diferentes concentrações de manitol.

Manitol (M)	% GERM	CR (cm)	CPA (cm)	CR (cm)	CPA (cm)	% SOB
	125 dias	160 dias			365 dias	
0,0	100,00a	1,44a	5,70a	8,0a	9,2a	100,00a
0,2	93,33a	0,97b	2,59b	4,71ab	3,66b	81,25ab
0,3	80,00ab	0,88b	1,83b	1,80c	2,70c	62,50bc
0,4	60,00b	0,55b	1,28b	1,60c	1,36c	56,25c
CV (%)	21,91	20,79	27,74	52,72	24,09	19,00

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

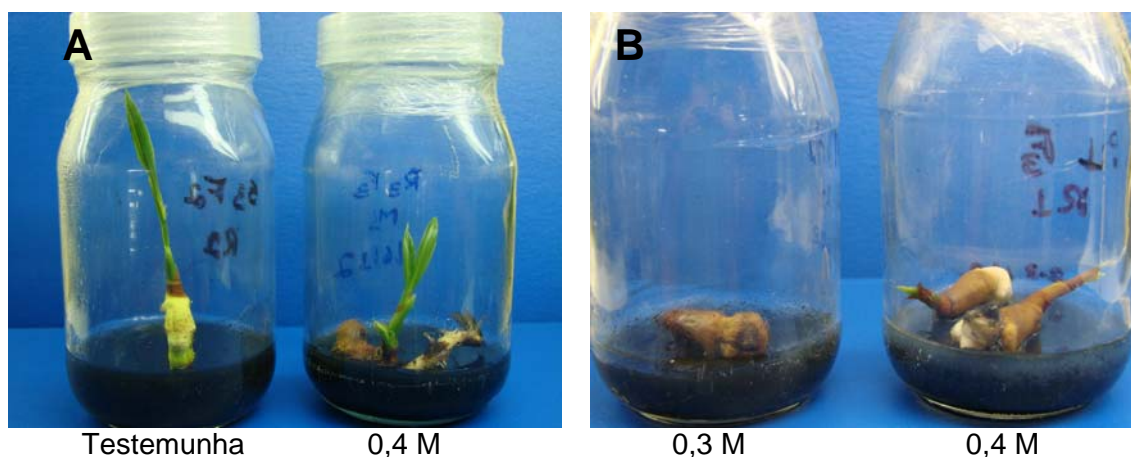


Figura 1. (A) Efeito da adição de 0,4 M de manitol em meio Y3 no desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de coqueiro AVeBrJ aos 365 dias de cultura; (B) Necrose de culturas mantidas em meio Y3 com 0,3 e 0,4 M de manitol aos 365 dias.

Aos 365 dias de cultivo observou-se o efeito retardante sob o crescimento do sistema radicular e parte aérea das plântulas mantidas em meio de cultura com 0,3 e 0,4 M de manitol (Tabela 1). Entretanto, nestas concentrações foi observada a necrose das culturas com redução na sobrevivência das plântulas (Figura 1B). Fortes & Pereira (2001) em estudos de conservação de hastes de batata também observaram que os tratamentos com manitol reduziram efetivamente o crescimento das hastes e apenas 37% de sobrevivência dos explantes em três meses de cultivo. Este fato pode ser explicado pelo efeito altamente estressante do manitol sobre as culturas.

Apesar de ser utilizado com bastante freqüência na conservação *in vitro* por apresentar um efeito retardante no crescimento e desenvolvimento de um grande número de espécies, no presente trabalho o manitol mostrou efeitos negativos na sobrevivência de plântulas de coqueiro AVeBrJ.

CONCLUSÕES

A adição de manitol a 0,3 ou 0,4 M promove um menor crescimento da parte aérea e da raiz, entretanto recomenda-se a condução de estudos com outros retardantes osmóticos e hormonais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DAMASCO, O. P. Utilization of embryo culture technology for germoplasm conservation: development of medium term conservation for coconut zygotic embryos in the Philippines. In: ENGELMANN, F.; BATUGAL, P.; OLIVER, J. (ed) **Coconut in vitro culture: part II**. Serdang: IPGRI-APO, 2002. p. 67-79, 2002.

EEUWENS, C. J. Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, v. 36, p. 23-28, 1976.

FAO. World Production. Disponível em: <<http://apps.fao.org/page/collection?subset=agriculture>>. Acesso em 23 mar. 2007.

FORTES, G. R. de L.; PEREIRA, J. E. S. Preservação *in vitro* da batata com ácido acetilsalicílico e duas fontes de carboidrato. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36 n.10, p. 1261-1264, 2001.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45^a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. **Anais...UFSCar**, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Exegetic: Edington, 1993, 547 p.

NASS, L. L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 30-55.

WITHERS, L. A; WILLIAMS, J. T. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: TORRES *et al.* [ed.]. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. v.1, p. 297-330.

PALAVRAS-CHAVE

Cocos nucifera L., germoplasma, regulador osmótico, crescimento lento.