

GERMINAÇÃO IN VITRO DE *Coffea arabica* e *Coffea canephora*SANTOS, C.G.¹; PAIVA, R.¹; GOMES, G.A.C.¹ e PAIVA, P.D.O.¹¹UFLA <cintiagsantos@hotmail.com >

RESUMO: A cultura de embriões *in vitro* permite a recuperação de embriões provenientes de cruzamentos interespecíficos, multiplicação rápida do material selecionado e, com isso, antecipar a época de plantio. Neste trabalho, foi determinada uma metodologia de cultura de embriões *in vitro* do *C. canephora* cultivar Apoatã e *C. arabica* cultivares Acaiá Cerrado, Rubi e Topázio. Para isso, foram testadas diferentes concentrações de BAP (0; 3,0; 6,0; 9; e 12 mg/L) disposto em um delineamento inteiramente casualizado, onde se pode determinar as concentrações ideais para as características número de sementes germinadas, número de folhas, comprimento do segmento nodal e número de brotações adventícias e comprimento de raízes. No caso das características avaliadas, observa-se que a germinação *in vitro* de embriões de café pode ser obtida utilizando-se meio de cultivo desprovido de BAP, e o uso de BAP inibe o desenvolvimento da radícula, independentemente da cultivar. Para a cultivar Apoatã, a obtenção de plântulas normais é possível apenas com a utilização de 9 mg/L de BAP. Para a cultivar Acaiá, a utilização de 12 mg/L BAP possibilita maior comprimento de segmentos nodais. Para a cultivar Rubi, a concentração de 12 mg/L BAP possibilita a maior obtenção de brotações adventícias (1,345 brotos/embrião) e o maior comprimento de segmentos nodais (1,20 cm). Para a cultivar Topázio, o maior número de folhas é alcançado com a utilização de 9 ou 12 mg/L BAP (3,59 e 4,23 folhas/plântula, respectivamente).

Palavras-chave: germinação *in vitro*, café, reguladores de crescimento.

IN VITRO GERMINATION WITH *Coffea arabica* AND *C. canephora*

ABSTRACT: The *in vitro* embryo culture allows to recover embryos obtained through interspecific crosses, and multiply rapidly the selected material which may anticipate the planting period. In this work, an *in vitro* embryo culture methodology of *C. canephora* cv Apoatã, and *C. arabica* cultivars Acaiá Cerrado, Rubi and Topázio was determined. Different concentrations of BAP (0; 3.0; 6.0; 9.0 and 12 mg/L) were tested and the following characteristics were evaluated: germination percentage, leaf number,

length of nodal segment, number of adventitious shoot and root length. 100% *in vitro* embryo germination was obtained in the presence and in the absence of BAP. Independent of the cultivar, the use of BAP inhibited root growth. For the Apoatã cultivar, normal plantlets were only obtained using 9.0 mg/L BAP. While the use of 12 mg/L BAP provided higher nodal segment length for the cultivar Acaiá, it provided the obtention of higher number of adventitious shoot (1.345 shoot/embryo) and nodal segment length (1.2 cm) for the cultivar Rubi. Higher leaf number per plantlet (3.59 and 4.23) for the cultivar Topázio is obtained using 9.0 or 12 mg/L BAP, respectively.

Key words: *in vitro* germination, coffea, growth regulators.

INTRODUÇÃO

Um dos desafios no melhoramento genético do cafeeiro está na redução do tempo gasto na seleção para produtividade no desenvolvimento de cultivares de café, pois ocorre um período longo do florescimento até a produção de sementes. As técnicas de cultura de tecidos têm possibilitado, além da obtenção de grande número de plantas, a diminuição do tempo necessário para obtenção de novas progênes e a garantia da uniformidade genética do material.

A multiplicação “*in vitro*” já é considerada de grande importância para a propagação em larga escala de genótipos excepcionais obtidos pelo melhoramento genético ou mesmo de variações induzidas “*in vitro*”, cuja fixação, por via sexual, seria muito longa e cara.

Este trabalho teve por objetivo estabelecer uma metodologia para a germinação *in vitro* de embriões, visando a produção de mudas para programas de melhoramento, fazendo necessária a otimização da metodologia para cada cultivar, visto que estas se comportam diferentemente quando cultivadas *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados como explantes sementes sem pergaminho e embriões retirados de frutos verde-cana das cultivares Apoatã (*C. canephora*) e Acaiá Cerrado, Rubi, Topázio (*C. arabica*) coletados no campo experimental do Setor de Cafeicultura da Universidade Federal de Lavras. Eles foram levados ao Laboratório de Cultura de Tecidos do Setor de Fisiologia Vegetal do Dep. de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Os frutos foram desinfestados em câmara de fluxo laminar, através da imersão em hipoclorito de sódio 70% (v/v) durante 30 minutos. Após realização do processo de desinfestação, eles foram lavados três vezes em água destilada e autoclavada, para remoção do excesso das soluções desinfetantes.

Após a realização do processo de desinfestação, os frutos foram transferidos para placas de Petri esterilizadas contendo papel-filtro, onde as sementes sofreram cortes para a retirada do pergaminho ou retirada dos embriões.

As sementes sem pergaminho e os embriões foram imersos em solução de ácido ascórbico 300 mg/L por cinco minutos e, em seguida, inoculadas em frascos contendo 15 mL de meio MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 3 g/L de sacarose, solidificado com 0,7% de ágar e suplementado com diferentes concentrações de BAP (0; 3,0; 6,0; 9; e 12 mg/L). O pH do meio foi ajustado em 5,8. Em seguida, o meio de cultura foi autoclavado a 121⁰C por 15 minutos.

Os frascos inoculados com as sementes foram mantidos em sala de crescimento em temperatura de 27 ± 2 ⁰C e intensidade luminosa de 13 μ mol.s⁻¹.m⁻² durante 40 dias. Após esse período, avaliaram-se o número de sementes germinadas, número de folhas, comprimento do segmento nodal e número de brotações adventícias e comprimento de raízes.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 30 repetições por tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes desprovidas de pergaminho, independentemente da cultivar ou do tratamento aplicado, não germinaram, e apresentaram acentuada contaminação por fungos.

Os embriões, independentemente da cultivar ou do tratamento, apresentaram 100% de germinação.

Em todas as cultivares, o desenvolvimento da radícula foi observado apenas no tratamento isento de BAP.

Para a cultivar Apatã, a obtenção de plântulas normais foi observada com a utilização de 9 mg/L de BAP. O tratamento desprovido de BAP levou à formação das plântulas anormais de coloração esbranquiçada, inviabilizando sua utilização com fonte de explantes em futuros trabalhos.

A utilização de 3, 6 e 12 mg/L de BAP induziu a formação de calos nos segmentos nodais das plântulas, impedindo seu desenvolvimento normal.

Na cultivar Acaiá, todos os tratamentos originaram plântulas normais, e a utilização de 12 mg/L de BAP possibilitou maior comprimento de segmentos nodais. No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas quanto ao número de folhas ou número de brotações.

Verificou-se que, para a cultivar Rubi, a concentração de 12 mg/L BAP possibilitou a maior obtenção de brotações adventícias (1,345 brotos/embrião) e maior comprimento de segmentos nodais (1,20 cm). Não foram observadas diferenças entre tratamentos quanto ao número de folhas.

Não foi observada a formação de brotações adventícias na cultivar Topázio. O maior número de folhas foi verificado com a utilização de 9 ou 12 mg/L de BAP (3,59 e 4,23 folhas/plântula respectivamente). Com a adição de BAP ao meio, independentemente da concentração, houve acréscimo no comprimento dos segmentos nodais em comparação ao tratamento controle.

CONCLUSÕES

- Cem por cento de germinação *in vitro* de embriões de café pode ser obtida utilizando-se meio de cultivo desprovido de BAP.
- A utilização de BAP inibe o desenvolvimento da radícula, independentemente da cultivar.
- Para a cultivar Apoatã, a obtenção de plântulas normais é possível apenas com a utilização de 9 mg/L de BAP.
- Para a cultivar Acaiá, a utilização de 12 mg/L de BAP possibilita maior comprimento de segmentos nodais.
- Para a cultivar Rubi, a concentração de 12 mg/L de BAP possibilita a maior obtenção de brotações adventícias (1,345 brotos/embrião) e o maior comprimento de segmentos nodais (1,20 cm).
- Para a cultivar Topázio, o maior número de folhas é alcançado com a utilização de 9 ou 12 mg/L de BAP (3,59 e 4,23 folhas/plântula, respectivamente).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, L.M.C.; O. PEREIRA, A.B.; CAMPOS, R.J.C.; PASQUAL, M. Influência dos reguladores de crescimento na cultura de embriões “*in vitro*” da cultivar Catuaí Vermelho LCH 2077-2-5-44. **III Seminário Internacional sobre Biotecnologia na Agroindústria Cafeeira**, 1999 p.67.
- MENDES, A.N.G.; GUIMARÃES, R.J. Genética e Melhoramento do Cafeeiro. **Curso de Especialização Pós-Graduação ‘Lato Sensu’ por Tutoria a Distância. Cafeicultura Empresarial**. Lavras, 1996. 99p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.↑

SONDAHL, M.R. Interações de citocininas e auxinas no crescimento e embriogênese de explantes foliares de *Coffea* sp. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 6, 1978. **Resumos**. Rio de Janeiro, 1978, p.67.