

INDUÇÃO DE MULTIBROTAÇÃO EM *C. arabica* CV. CATUAÍ VERMELHO /81, USANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BAP EM BIORREATOR DE IMERSÃO PERMANENTE (BIPER)

CID, L.P.B.¹ E CRUZ, A.R.R.¹

¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Cx.Postal 02372, CEP 70770-900, Brasília-DF, Brasil.
<lpedro@cenargen.embrapa.br>

RESUMO: A multiplicação *in vitro* visando a produção em grande escala de um genótipo comercial é uma meta perseguida por qualquer laboratório de micropropagação. Por isso, no presente trabalho são relatados resultados de micropropagação usando biorreator de imersão permanente (BIPER). Assim, brotos de *C. arabica* cv. Catuaí vermelho 81 foram inoculados em meio líquido básico SP suplementado com 0, 12 e 24 μM de BAP. Foram inoculados dois frascos de biorreator por tratamento, com 16 brotos cada um. Ao final de 45 dias de cultivo em BIPER, foi constatado incremento significativo no peso, no número de brotos e na altura destes no tratamento de 24 μM de BAP, o que representa uma taxa de multiplicação oito vezes superior ao controle e duas vezes em relação ao outro tratamento. Os resultados alcançados demonstram a viabilidade do sistema para multiplicação *in vitro* da referida cultivar e encorajam a continuação dos trabalhos nesta linha de pesquisa.

INTRODUÇÃO

A micropropagação de plantas é uma técnica que visa a produção de plantas de genótipos selecionados, embora nem sempre se disponha de uma metodologia compatível com esse propósito em escala comercial. Dentre as abordagens inovativas a esse respeito cabe destacar os biorreatores (Margaritis & Wallace, 1984; Preil & Beck, 1991) como sistemas alternativos ao método tradicional de cultivo em meio sólido. Os biorreatores para micropropagação de plantas são de dois tipos: os de imersão temporária e os de imersão permanente ou borbulhamento contínuo (Alvard et al., 1993; Merchuk, 1990) e em sistemas como estes tem sido relatadas redução de custos operacionais (Escalona et al., 1999). Dentro dessa perspectiva, o presente trabalho visa apresentar resultados de uso de um biorreator de imersão permanente numa cultivar de *C. arabica*. Para isso, foi usado um tipo de aparelho (BIPER) que já tinha sido testado em laboratório com outros materiais (Barrueto Cid & Cruz, 2001) e que agora será usado com

gemas nodais de Catuaí Vermelho 81, pois na cafeicultura do País não existem dados sobre micropropagação através deste sistema um nível experimental ou comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de Catuaí vermelho 81 (previamente esterilizadas) foram inoculadas em meio SP (Barrueto Cid et al., 1999) modificado. Após algum tempo, a parte apical de eixo caulinar foi inoculada em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 12 μM de BAP (6- Benzilaminopurina). Quando os explantes (“clusters”) apresentaram de 3-4 brotos de 5 mm aproximadamente, foram inoculados em erlenmeyer de 250 ml, contendo 50 ml de MS líquido suplementado com 100 mg/l de Benlat e Claforan, e mantidos sob luz difusa e agitação (100 rpm) por uma semana. Posteriormente, o material foi transferido para BIPERS contendo cada um 700 ml de meio SP suplementado com 0, 12 e 24 μM de BAP e a metade da combinação de fungicida e antibiótico já mencionada. Foram usados dois BIPERS por tratamento, com cinco “clusters” cada um, e o peso fresco destes foi avaliado antes de serem inoculados. Após 45 dias de cultura em meio líquido, o material foi retirado dos biorreatores para avaliação de número de brotos, peso e altura destes. As condições de luz e temperatura foram de 16 horas-luz e temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi constatado que 24 μM de BAP foi o tratamento que proporcionou maior número de brotos e, conseqüentemente, maior peso fresco (Figuras 1, 2 e 3), sendo a taxa de multiplicação oito vezes superior ao controle e duas vezes ao outro tratamento.

Por outro lado, durante os 45 dias de cultivo não houve problemas de contaminação, e os resultados sugerem que a presença do fungicida, bem como do antibiótico, não comprometeu negativamente os resultados. Convém ressaltar que não foram registrados sintomas de vitrificação do material.

Os resultados, em termos de taxa de multiplicação, são superiores aos obtidos em similares condições em meio sólido (dados não apresentados). Todos esses antecedentes estimulam a continuar a presente linha de pesquisa, objetivando aprimorar um eficiente sistema de micropropagação via BIPER.

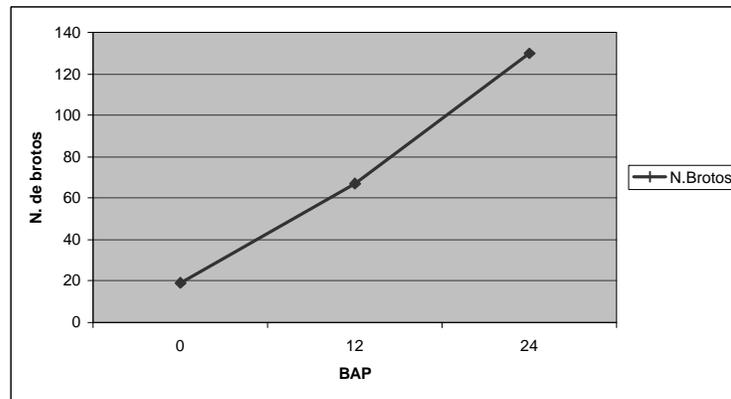


Figura 1 - Número médio de brotos ao final de 45 dias de cultivo.

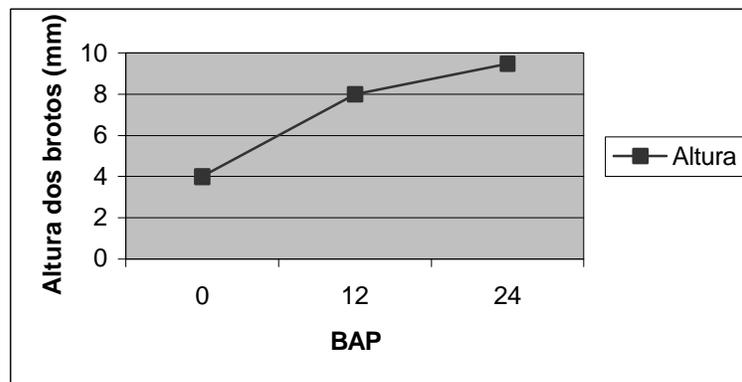


Figura 2 - Altura média dos brotos ao final de 45 dias de cultivo.

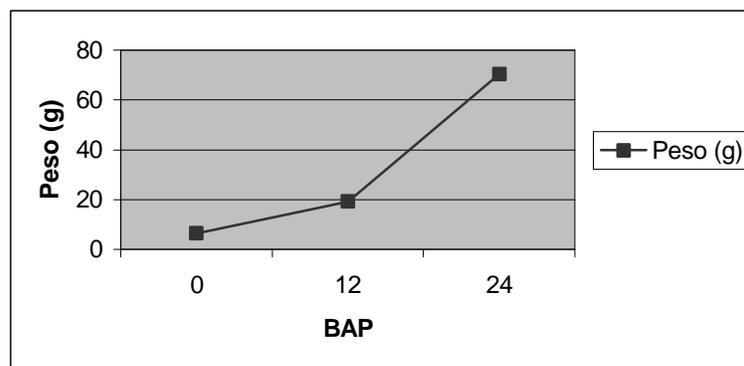


Figura 3 - Peso médio da matéria fresca ao final de 45 dias de cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARD, D.; COTE, F.; TEISSON, C. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation. Effects of temporary immersion of explants. **Plant Cell, Tiss. Org. Cul.**, 32:55-60, 1993.
- BARRUETO CID, L. P.; MACHADO, A C. M. G.; CARVALHEIRA, S. B. R. C. & BRASILEIRO, A C. M. Plant regeneration from seedling explants of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. **Plant Cell Tiss. Cult. Org.**, 56:17-23, 1999.
- BARRUETO CID, L.P. & CRUZ, A R. R. Biorreatores de Imersão Permanente (BIPER). **IV Encontro Latinoamericano de Biotecnologia Vegetal**. REDBIO. Goiânia, Goiás. 04-08 junho, 2001.
- ESCALONA, M.J.C.L.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; FUNDORA, Z.; BORROTO, C.G.; ESPINOSA, P.; ESPINOSA, D.; ARIAS, E.; Aspiólea, M.E.; New sistem for *in vitro* propagation of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr). Pineapple News, Vol. 5. P. 5-7, 1999.
- MARGARITIS, A AND WALLACE, J.B. Novel biorreactor systems and their applications. *Bio/tech.*, 2:447-453, 1984.
- MERCHUK, J.C. Why use air-lift biorreactors?. *Tibtech.*, 8:66-68, 1990.
- MURASHIGE, T. AND SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, 15:473-497, 1962.
- PREIL, W. AND BECK, A . Somatic embriogenesis in biorreactor culture. **Acta Horticulturae**, 289:179-192, 1991.