

EFEITO DE BENZILAMINOPURINA E ÁCIDO NAFTALENO ACÉTICO NA PROLIFERAÇÃO E ELONGAÇÃO DE BROTAÇÕES MICROPROPAGADAS EM *COFFEA ARÁBICA* L. "IN VITRO"¹

MOACIR PASQUAL² e INÁCIO DE BARROS³

RESUMO - A cultura de tecidos tem se apresentado como uma importante ferramenta de trabalho para o melhoramento genético vegetal e propagação de plantas. Segmentos nodais com aproximadamente 3 mm, excisados de plântulas do café cultivar catuaí, linhagem LC-2077-2-5-44, obtidos *in vitro*, foram inoculados em meio constituído dos sais de Murashige e Skoog, vitaminas de Morel, mioinositol (100 mg.l⁻¹), glicina (2 g.l⁻¹), sacarose (30 g.l⁻¹) e ágar (7 g.l⁻¹). O experimento constou de 18 tratamentos a saber: benzilaminopurina (BAP) nas concentrações de 0, 500, 1.000, 1.500, 2.000, 2.500, 3.000, 3.500 e 4.000 µg.l⁻¹, na presença e ausência de ácido naftaleno acético (ANA) 200 µg.l⁻¹, e foi conduzido à luz por 16 horas diárias e uma temperatura de 27°C. As avaliações foram feitas 90 dias após a inoculação através do número total de brotos e brotos com mais de 1 cm. Concluiu-se que a multiplicação de gemas ortotrópicas é mais estimulada por BAP 3.000 µg.l⁻¹ na ausência de ANA. A maior proliferação de brotos com mais de 1 cm ocorre na concentração de 500 µg.l⁻¹ de BAP. O uso de 200 µg.l⁻¹ de ANA é prejudicial à proliferação de brotos.

Termos para indexação: cultura de tecidos, micropropagação, café.

EFFECT OF BENZYLAMINO PURINE AND NAPHTHALENEACETIC ACID ON SHOOT PROLIFERATION AND GROWTH *IN VITRO* OF *COFFEA ARABICA* L.

ABSTRACT - Tissue culture technique is an important instrument for genetic plant breeding and plant propagation. Shoots with nearly 3 mm, excised from seedlings obtained *in vitro* of *Coffea arabica* L. Cv. catuaí, line LC-2077-2-5-44, were inoculated on medium composed of salts of Murashige and Skoog, vitamins of Morel, myoinositol (100 mg.l⁻¹), glycine (2 g.l⁻¹), sucrose (30 g.l⁻¹) and agar (7 g.l⁻¹), additioned by benzylamino purine (BAP) (0, 500, 1.000, 2.000, 2.500, 3.000, 3.500 and 4.000 µg.l⁻¹) and naphthaleneacetic acid (NAA) (0 and 200 µg.l⁻¹). The experiment was carried out under light (16 hours photoperiod) and 27°C. The total bud multiplication was best on the medium with BAP 3.000 µg.l⁻¹ without NAA, after 90 days of culture. The best proliferation of shoots bigger than 1 cm took place in BAP 500 µg.l⁻¹ concentrations. The use of NAA 200 µg.l⁻¹ caused damage to shoot proliferation.

Index terms: tissue culture, micropropagation.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal produtor mundial de café, que representa uma das maiores fontes de divisas para o País.

¹ Aceito para publicação em 13 de novembro de 1990

² Eng. - Agr., Dr., Prof. - Adj., Dep. de Agric. da Esc. Sup. de Agric. de Lavras, Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

³ Em curso de Agron. na Esc. Sup. de Agric. de Lavras, Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

O cafeeiro é um arbusto contínuo que apresenta ramos ortotrópicos e plagiotrópicos. Nas axilas das folhas existe uma série linear ordenada de cinco a seis gemas - gemas seriadas, e, isolada acima da série, outra gema dita 'cabeça-de-série' que se forma a partir do 8º ao 10º nó. Num fenômeno de determinismo morfológico, as gemas cabeça-de-série dão origem unicamente a ramos laterais e as seriadas brotam espontaneamente, ficando a planta com aspecto entouceirado (Dedecca 1957). A pre-

sença destas gemas tem sido explorada como uma alternativa para a propagação vegetativa do cafeeiro.

As técnicas de cultura de tecidos tem possibilitado a obtenção de grande número de plantas, em curto espaço de tempo, para diversas espécies. Outra vantagem importante da propagação vegetativa é a uniformidade genética das plantas obtidas.

Custer (1980), citado por Söndahl et al. (1981), na tentativa de propagar o cafeeiro (*Coffea arabica*) *in vitro*, através de segmentos nodais, registrou uma baixa taxa de multiplicação (2,2 novos brotos por explante), fazendo uso do meio 'MS' (Murashige & Skoog 1962) acrescido de 6-benzilaminopurina (BA) na concentração de 44 μM e ácido indol acético (AIA) à 0,6 μM . Resultados similares foram evidenciados por Dublin (1982) com explantes de Arabusta (híbrido F_1 de *Coffea arabica* x *C. canephora*) em meio suplementado por extrato de malte-400 mg/l e BA-4,4 μM .

Taxas de neoformação de brotos situadas entre 30 e 57%, consideradas baixas em relação às obtidas com outras espécies, foram registradas por Dublin (1980) cultivando entrenós em meio '30-K' (Margara 1977) e 'MS' adicionados de 1,0 mg/l de isopentenil adenina - IPA, BA ou AIA.

Objetivou-se com o presente trabalho determinar o efeito do BAP e ANA sobre a propagação *in vitro*, de cafeeiro 'Catuaí' através da cultura de gemas.

MATERIAL E MÉTODOS

Os segmentos nodais utilizados na inoculação foram obtidos através da repicagem de mudas oriundas de sementes *in vitro*. Estes segmentos caulinares, com aproximadamente 3 mm, apresentavam um par de folhas, as quais foram excisadas.

Foram feitas dez repetições de cada tratamento, cada repetição foi representada por um tubo de ensaio (10 x 2 cm).

Foram feitos 18 tratamentos que consistiram de sais de MS, vitaminas de Morel (1964), mio-inositol (100 mg.l⁻¹), glicina (2 g.l⁻¹), sacarose (30 g.l⁻¹),

adicionando-se concentrações variadas de (em $\mu\text{g.l}^{-1}$): ANA (Ácido naftaleno acético) - 0,0; 200, e BAP (Benzilaminopurina) 0; 500; 1.000; 1.500; 2.000; 2.500; 3.000; 3.500; 4.000. Todos os tubos foram mantidos sob regime de 16 horas diárias de luz (2.000 lux) a uma temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$.

A cultivar utilizada foi a Catuaí, linhagem LC-2077-2-5-44.

As avaliações foram feitas 90 dias após a inoculação, sendo que os parâmetros avaliados foram brotações totais e brotos maiores que 1 cm. Os dados foram transformados em $\sqrt{x + 1/2}$ para a análise estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na Tabela 1 que houve diferenças significativas entre os diferentes níveis de BAP, tanto para número total de brotos como para brotos maiores que 1 cm. Maior número total de novos brotos por gema (3,14) foi registrado com a adição de BAP-3.000 a $\mu\text{g/l}$, não diferindo significativamente dos tratamentos BAP-2.000, 1.500, 1.000 e 3.500 $\mu\text{g/l}$. Brotos com comprimento superior a 1 cm foram evidenciados em maior número quando da

TABELA 1. Número total de brotos e maiores que 1 cm em cultura de gemas de *C. arabica* em diferentes níveis de BAP.

BAP ($\mu\text{g/l}$)	Número médio de brotos	
	Total	Maiores que 1 cm
0	0,7034 C	0,1998 AB
500	1,1697 BC	0,3686 A
1.000	1,7798 ABC	0,1033 B
1.500	1,8492 ABC	0,0000 B
2.000	2,3227 AB	0,0000 B
2.500	2,1468 B	0,0000 B
3.000	3,1389 A	0,1159 AB
3.500	1,5782 ABC	0,0373 B
4.000	1,3420 BC	0,0000 B

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

adição de BAP-500 $\mu\text{g/l}$ não diferindo de BAP-0 e 3.500 $\mu\text{g/l}$. Desta forma, fica evidente que nem sempre o meio que induz a formação de um maior número de brotos é o que proporciona maior produção de brotos maiores que 1 cm, mais apropriados ao processo de enraizamento *in vitro*.

Estes resultados demonstram que nos melhores tratamentos obtiveram-se taxas de multiplicação superiores às evidenciadas por Custer (1980), citado por Söndahl et al. (1981), que, fazendo uso do meio 'MS' adicionado de BA 44 μM e AIA-0,6 μM , registrou 2,2 novos brotos por explante.

A ação da citocinina sobre os explantes demonstrou-se benéfica à proliferação de brotos até o patamar de 3.000 $\mu\text{g/l}$; em níveis mais elevados, aparentemente ela se tornou tóxica, pois, percebe-se na Tabela 1 uma tendência de redução do número total de brotos em concentrações superiores a 3.000 $\mu\text{g/l}$.

Resultados similares foram obtidos por Dublin (1980) em meio '30K' ou 'MS' suplementados por IPA, BA ou AIA na concentração de 1,0 mg/l.

A Tabela 2 mostra que houve diferença significativa entre os dois níveis de ANA utilizados, apenas para número total de brotos, evidenciando superioridade da ausência de ANA.

Sob o ponto de vista fisiológico, deve ocorrer, *in vitro*, um fenômeno de característi-

cas semelhantes ao que ocorre *in vivo*. A auxina presente na região meristemática, e que regula a dominância apical, inibe a ação da citocinina presente nas gemas axilares sobre a brotação. De forma similar, no processo de micropropagação *in vitro*, a auxina adicionada ao meio de cultura pode inibir a ação da citocinina presente na gema e incorporada ao meio de cultura, prejudicando a maximização da proliferação dos brotos.

Com relação ao alongamento das brotações, representado pelo número de brotos com mais de 1 cm, observa-se na Tabela 2 que não houve diferença significativa entre a presença e ausência de auxina.

O efeito aparentemente inibitório do ANA sobre a proliferação de brotos discorda da maioria dos resultados obtidos por vários autores (Dublin 1980, entre outros) que apresentam razoáveis taxas de multiplicação com a adição de auxina, juntamente com uma citocinina. Talvez a concentração de 200 $\mu\text{g/l}$ utilizada neste trabalho tenha sido muito elevada, e o uso de níveis menores de ANA pudesse mostrar resultados positivos.

CONCLUSÕES

1. A multiplicação de gemas ortotrópicas de *Coffea arabica* cv. catuaí é mais estimulada por BAP-3.000 $\mu\text{g/l}$ na ausência de ANA.
2. A maior proliferação de brotações com mais de 1 cm ocorre na concentração de 500 $\mu\text{g/l}$ de BAP.
3. O uso de ANA na concentração de 200 $\mu\text{g/l}$ é prejudicial à proliferação total de brotos.

TABELA 2. Número total de brotos e maiores que 1 cm em cultura de gemas de *C. arabica* em diferentes níveis de ANA.

ANA ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Número médio de brotos	
	Total	Maiores que 1 cm
0	2,2126 A	0,1085 A
200	1,2980 B	0,0644 A

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

REFERÊNCIAS

- DEDECCA, D.M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. *Bragantia*, Campinas, v.16, p.315-355, 1957.
- DUBLIN, P. Culture de tissus et amelioration génétique des caféiers. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE

- TIFIQUE INTERNATIONAL SUR CAFÉ. 10., 1981. Salvador, 1982. p.433-459.
- DUBLIN, P. Induction de bourgeons néoformés et embryogenèse somatique. Deux voies de multiplication végétative *in vitro* des cafeiers cultivés. **Café cacáo, Thé**, v.24, n.2, p.121-130, 1980.
- MARGARA, J. La multiplication végétative de la betterave (*Beta vulgaris* L.) en culture *in vitro*. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Série D**, v.289, p.1041-1044, 1977.
- MOREL, G. La culture *in vitro* du meristeme apical. **Revue de Cytologie et de Biologie Vegetales**. v.27, p.307-314, 1964.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- SÖNDAHAL, M.R.; MONACO, L.C.; SHARP, W.R. *In vitro* methods applied to coffee. In: THORPE, T.A. **Plant tissue culture: methods and applications in agriculture**, [S.l:s.n.], 1981. p.325-348.