

CALOGÊNESE EM CAFÉ EXCELSA

Duanny T. R. CAPRONI¹; Sudário R. S. JÚNIOR²; Thalyta S. GONÇALVES²; Maria G. TEIXEIRA³; Wellington M. BARBOSA⁴

RESUMO

O café Excelsa apresenta potencial de utilização para o melhoramento genético do café. Objetivou-se estabelecer protocolo para sua micropropagação, testando diferentes meios de cultura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições por tratamento. Na avaliação aos 30 dias, constatou-se que houve 96, 95 e 80% de calogênese em T1, T2 e T3 respectivamente. A contaminação ocorreu em 20, 30 e 20% dos tratamentos. Aos 60 dias T1 e T3 apresentaram 100% de oxidação e T2 87%.

INTRODUÇÃO

O *Coffea dewevrei*, também conhecido como café Excelsa, é uma espécie de café originária da África Central, podendo atingir de oito a dez metros de altura. As folhas são grandes, medindo cerca de 26 cm de comprimento e 13 cm de largura, e coriáceas. O número total de flores produzidas é grande, a produção anual é elevada e a média de sementes do tipo moca é de 21% (CARVALHO et al., 1990). Além destas características morfológicas, o café Excelsa apresenta resistência a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) e a alguns nematóides (FAZUOLI, 1981), e ao bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) (MEDINA FILHO et al., 1977). Existem informações de que é resistente a baixas temperaturas (CRAMER, 1957), o que lhe garante ótimo material para o melhoramento genético do café. Devido às suas características morfológicas, pode ser utilizado como quebra-vento em lavouras cafeeiras, devido

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Machado. Machado/MG, email: duannycaproni@hotmail.com;

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Machado. Machado/MG, email: sudario1@hotmail.com; thalyta_sg@hotmail.com;

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Machado. Machado/MG, email:

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Machado. Machado/MG, email: wmbarbosa@hotmail.com

ao altíssimo porte. Outra aplicação comercial da espécie seria a formação de *blends*, uma vez que a adição de até 23% dos seus grãos no café arábica não apresenta grande influência na bebida (CARVALHO et al., 1990).

O Instituto Federal do Sul de Minas, Câmpus Machado, apresenta um único exemplar da espécie *Coffea dewevrei*, que, devido à alogamia e à auto-incompatibilidade, sugere-se a clonagem da mesma. Por ser uma espécie com tantas expressões gênicas de interesse ao melhoramento, bem como sua utilização no manejo da cultura do café arábica, propõe-se desenvolver técnicas biotecnológicas de cultura de tecidos vegetais que possam auxiliar na proliferação desta espécie, uma vez que sua reprodução é lenta e de difícil resposta.

Diante da sustentabilidade da cafeicultura, há uma necessidade constante de novas variedades com elevadas produções, resistente a doenças, tolerante a pragas e adaptadas às diferentes condições de cultivo. Os programas de melhoramento genético podem levar cerca de 30 anos para obter novas cultivares de café, por ser uma espécie com ciclo de seleção longo, e a obtenção de sementes de plantas homozigóticas somente pode ser possível após seis gerações. O desenvolvimento de técnicas de propagação vegetativa *in vitro* de cafeeiros promove uma alternativa viável para a rápida multiplicação de novas plantas – novos clones, híbridos, variantes somaclonais ou plantas transgênicas, com características desejáveis e representadas por um número pequeno de espécies. Os métodos de cultura de tecidos permitem a produção de plantas relativamente uniformes em grande escala, em menor período de tempo em relação aos métodos convencionais (SÖNDAHL et al., 1985).

Embasados nessas informações esse trabalho tem por objetivo estabelecer um protocolo efetivo para o estabelecimento *in vitro* de *Coffea dewevrei*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. Antes da coleta, folhas jovens de *Coffea dewevrei* mantidas em campo, foram pulverizadas três vezes em dias alternados com inseticida, bactericida, fungicida e acaricida, foram coletadas como fonte de explantes. As folhas coletadas foram colocadas em papel toalha umedecido, e conduzidas ao laboratório, onde permaneceram sobre a bancada por no mínimo 30 minutos para total fechamento

dos estômatos, foram lavadas, em seguida, foram levadas para câmara de fluxo laminar onde foram submetidas a desinfestação, que consistiu em: álcool 70% por 2 minutos mais hipoclorito de sódio 2,5% + 30 gotas/L de Tween 20% por 40 minutos, com agitação constante. Os agentes desinfestantes foram removidos por tríplice lavagem com água destilada e autoclavada.

Foram utilizados protocolos de meios de cultura existentes e aplicados na micropopagação de *Coffea* sp., onde cada um deles representa um tratamento :

I. Yasuda et al. (1985), que consiste em Sais MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), Vitaminas B5 (Gamborg et al, 1968), 5 μ M de 2-iP, sacarose 30 g L⁻¹, 2 g L⁻¹ de Phytigel e pH do meio em 5,7;

II. Cordeiro, (1999), o meio primário consiste em Sais MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), Vitaminas B5 (Gamborg et al, 1968), 20 μ M de BAP, sacarose 30 g L⁻¹, 2 g L⁻¹ de Phytigel e regulagem do meio em pH 5,7. Após 30 dias, repicagem para o meio secundário, que consiste em Sais MS/2 (MURASHIGE e SKOOG, 1962), Vitaminas B5 (Gamborg et al, 1968), 5 μ M de BAP e sacarose 30 g L⁻¹, regulagem do meio em pH 5,7;

III. Teixeira et al. (2004), que consiste em meio primário Sais MS/2 (MURASHIGE e SKOOG, 1962), Vitaminas B5 (Gamborg et al, 1968), 2,21 μ M de 2,4-D, 1 mg mL⁻¹ de 2-iP, sacarose 20 g L⁻¹, 7 g L⁻¹ de ágar e regulagem do meio em pH 5,7. Após 30 dias, repicagem para o meio secundário que consiste em Sais MS/2 (MURASHIGE e SKOOG, 1962), Vitaminas B5 (Gamborg et al., 1968), 5 μ M de BAP e sacarose 30 g L⁻¹, pH do meio em 5,7.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições por tratamento, 10 explantes por placa, totalizando 100 explantes por tratamento. Avaliações foram feitas aos 30 e 60 dias, baseadas nas porcentagens de reação calogênica, contaminação e oxidação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira avaliação, aos 30 dias após inoculação, constatou-se que o maior aparecimento de calos foi no T1 com 96% de calogênese. Seguida do T2 com 95%, e por último T3 com 80% de formação de calos (Figura 1).

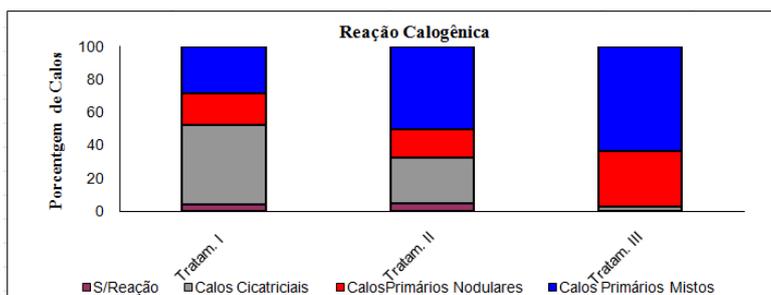


Figura 1: Reação calogênica aos 30 dias após inoculação. Laboratório de biotecnologia do IF Sul de Minas Câmpus Machado, 2013

Houve contaminação com valores de 20, 30 e 20% respectivamente para os tratamentos, T1, T2 e T3. Aos 60 dias os tratamentos 1 e 3 apresentaram 100% de reação calogênica enquanto o T2 obteve 97,5%. Conforme ilustra a figura 2, os tratamentos 1 e 3 apresentaram 100% de oxidação contra 87% no T2.

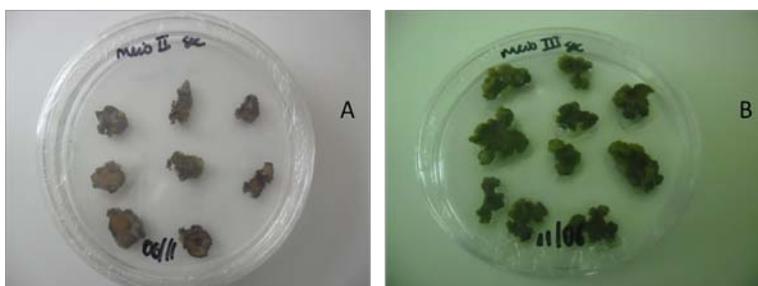


Figura 2: Explantes oxidados cultivados no meio II (A) e com calos, cultivados no meio III (B). Laboratório do IF Sul de Minas Câmpus Machado, 2013.

Foi verificado que o tratamento 3 obteve maior número de calos mistos, apresentando menor inclinação para o desenvolvimento da embriogênese.

Verifica-se que as reações calogênicas sofreram poucas modificações entre os 30 e 60 dias.

CONCLUSÕES

O T3 apresenta menor inclinação para o desenvolvimento da embriogênese.

AGRADECIMENTO

FAPEMIG

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, A., FAZUOLI, L.C., TEIXEIRA, A.A., GUERREIRO FILHO, O. Aproveitamento do café excelsa em mistura com café arábica. **Bragantia**, Campinas/SP, 48(2): 335-343, 1990.

CORDEIRO, A. T. **Embriogênese somática indireta e fusão interespecífica de protoplastos em *Coffea***. Viçosa, MG: Universidade federal de Viçosa. Dissertação de Doutorado. 111 p. 1999.

CRAMER, P.J.S. **A review of literature of coffee research in Indonesia**. Turrialba, Costa Rica, Inter-American Institute of Agricultural Sciences, 1957. 262 p. (Miscellaneous publication, 15)

FAZUOLI, L.C. Resistance of coffee to the root-knot nematode species *Meloidogyne exigua* and *M.incognita*. In: COLLOQUE INTERNATIONAL SUR LA PROTECTION DES CULTURES TROPICALES, Lyon, 1981. **Resumes**. Lyon, Fondation Scientifique de Lyon et du Sud.-Est 1981. p.57

GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v. 50, p. 151-158, 1968.

MEDINA FILHO, H.P., CARVALHO, A.; MONACO, L.C. Melhoria do cafeeiro: XXVII. Observações sobre a resistência do cafeeiro ao bichomineiro. **Bragantia**, Campinas, **36**:131-137, 1977.

SÖNDAHL, M. R., NAKAMURA, T., SHARP, W. R. Propagation of coffee. In: HENKE, R. R., HUGHES, K. W., CONSTANTIN, M. P., HOLLAENDER, A. (Eds.), **Tissue culture in forestry and agriculture**. New York: Plenum, 1985. p. 215 – 232.

TEIXEIRA, J. B.; JUNQUEIRA, C. S.; PEREIRA, A. J. P. C.; MELLO, R. I. S.; SILVA, A. P. D.; MUNDIM, D. A. **Multiplicação clonal de café (*Coffea arabica* L.) via embriogênese somática**. Brasília – DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. Documentos, 121).

YASUDA, T.; FUJII, Y.; YAMAGUCHI, T. Embryogenic callus induction from *Coffea arabica* leaf explants by benzyladenine. **Plant Cell Physiology**, v. 26, p. 595-597, 1985.