



11ª Jornada Científica e
Tecnológica do IFSULDEMINAS

& **8º** Simpósio de
Pós-Graduação

INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES FOLIARES DE CAFEIEIRO: EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE 2,4-D e BAP.

Otávio Henrique S. MARTINS¹; Otávio A. PEIXOTO²; Jéssica A. BATISTA³; Anna Lygia R.
MACIEL⁴.

RESUMO

Objetivou-se estudar o efeito do 2,4-D e do BAB na indução *in vitro* de calos em explantes foliares de cafeeiro via embriogênese somática. O delineamento experimental foi em inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4, com quatro repetições e cinco explantes por parcela. Segmentos foliares foram inoculados em meio de cultura de Indução contendo as seguintes concentrações de 2,4-D (0; 1; 2; 4 mg L⁻¹) e BAP (0; 0,5; 1 e 2 mg L⁻¹). Os meios de cultura utilizados tiveram pH ajustado para $5,8 \pm 1$ antes de serem autoclavados. O experimento foi mantido em sala de crescimento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Foram avaliados os parâmetros: Porcentagens de contaminação, oxidação e calos cicatriciais (estádio de diferenciação das células em calos). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Skott Knott. O BAP e 2,4-D interferem na contaminação de explantes. As maiores porcentagens de calos cicatriciais são obtidas indução com concentrações de 0,0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D e 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L.; Embriogênese somática; Segmentos foliares.

1. INTRODUÇÃO

O sucesso dos programas de melhoramento genético tem colocado à disposição dos cafeicultores, cultivares mais adaptadas, produtivas e que atendem às necessidades dos consumidores. Entretanto, o melhoramento genético do cafeeiro através de métodos convencionais, principalmente hibridação, retrocruzamentos e cruzamentos interespecíficos, seguidos da seleção de populações, avaliação de progênies, é um processo demorado, podendo levar mais de trinta anos para se obter uma nova cultivar (ALMEIDA et al., 2000).

A introdução de técnicas biotecnológicas para auxiliar nos programas de melhoramento genético do cafeeiro é cada vez mais frequente, sendo a embriogênese somática um importante

¹Acadêmico do Curso de Engenharia Agrônoma, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. e-mail: oscherermartins@gmail.com

²Acadêmica do Curso de Engenharia Agrônoma, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. e-mail: ribeiro.agro.21@gmail.com

³Acadêmico do Curso de Engenharia Agrônoma, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. e-mail: larissaoliveiracy@gmail.com

⁵Orientador, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. e-mail: anna.lygia@ifsuldeminas.edu.br

método de propagação *in vitro*, que consiste no desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas, sem que haja fusão de gametas, reduzindo assim a distância e facilitando a acessibilidade de materiais com características agronômicas superiores por parte dos cafeicultores (MACIEL et al., 2003).

Contudo, duas estratégias têm sido utilizadas com o objetivo de obtenção de tecido embriogênico em *Coffea*: a primeira envolve o cultivo de explante sobre a combinação de auxina e citocinina (PIERSON et al., 1983), a segunda estratégia utiliza o cultivo de explantes em um meio primário ou de indução, seguido da transferência dos explantes para o meio secundário, tido como de diferenciação (DUBLIN, 1984).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de diferentes concentrações de 2,4-D e BAP na otimização do processo de indução de calos em explantes foliares de cafeeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia e Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Campus Muzambinho, no período maio a julho de 2019. Os explantes utilizados foram segmentos foliares de *Coffea arabica* cv. Catuai Vermelho Iac - 144, com tamanho médio de 1cm², provenientes de plantas sadias do Setor de Cafeicultura do Campus Muzambinho.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com quatro repetições de cinco explantes por parcela. Os tratamentos consistiram da combinação de diferentes concentrações de 2,4-D (0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg.L⁻¹) e BAP (0; 0,5; 1,0; e 2,0 mg.L⁻¹) adicionados ao meio de cultura inicial para indução de calos (TEIXEIRA et al, 2004).

Os explantes de cafeeiro foram inoculados, em câmara de fluxo laminar, individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura. Após a inoculação, os tubos contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob condições de total ausência de luz, com temperatura de 25 ± 1°C.

O experimento foi avaliado quanto às porcentagens de contaminação (aos 7, 14 e 21 dias) de oxidação (aos 7, 14 e 21 dias) e de calos cicatriciais (estádio de diferenciação das células em calos), aos 30 dias após a instalação do experimento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o emprego do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), sendo a diferença significativa entre tratamentos determinada pelo teste F e posteriormente, analisados pelo teste de comparação de médias Skott Knott.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que houve diferença

significativa apenas pelos fatores isolados para as características porcentagens de contaminação (7 e 14 dias) e de indução de calos.

Não houve oxidação fenólica nos explantes foliares de cafeeiro aos sete dias após a instalação do experimento, e aos 14 e aos 21 dias não houve diferença significativa entre os fatores e para os fatores isolados (Tabela 1). Pode-se observar na Tabela 1, que a porcentagem de oxidação fenólica apresentou valor máximo de % aos 21 dias, valor este considerado baixo para explantes foliares de cafeeiro.

Tabela 1. Porcentagens de contaminação aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação, de oxidação aos 14 e 21 dias e de calos cicatriciais em explantes foliares de cafeeiro em diferentes concentrações de BAP e 2,4-D. Muzambinho- MG, 2019.

Contaminação aos 7 dias (%)						Contaminação aos 14 dias (%)					
BAP (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)					BAP (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	2,0	Média		0,0	0,5	1,0	2,0	Média
0,0	40Aa	5Aa	0Aa	25Aa	17,5a	0,0	0Aa	0Aa	0Aa	0Aa	0b
0,5	45Aa	25Aa	25Aa	15Aa	27,5a	0,5	10Aa	15Aa	0Aa	0Aa	6,25a
1,0	10Aa	10Aa	0Aa	5Aa	6,25b	1,0	10Aa	5Aa	0Aa	0Aa	3,75a
2,0	15Aa	5Aa	0Aa	15Aa	8,75b	2,0	5Aa	0Aa	0Aa	0Aa	1,25b
Média	27A	11,2B	6,25B	15,0B		Média	6,25A	5,0A	0B	0B	
CV(%)	104,0					CV(%)	211,6				

Contaminação aos 21 dias (%)						Oxidação aos 14 dias (%)					
BAP (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)					BAP (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	2,0	Média		0,0	0,5	1,0	2,0	Média
0,0	10Aa	10Aa	0Aa	0Aa	5,00a	0,0	5Aa	0Aa	5Aa	0Aa	2,50a
0,5	0Aa	10Aa	0Aa	5Aa	3,75a	0,5	0Aa	0Aa	0Aa	0Aa	0,00a
1,0	0Aa	10Aa	5Aa	10Aa	6,25a	1,0	15Aa	0Aa	0Aa	0Aa	3,75a
2,0	10a	0a	5Aa	0Aa	3,75a	2,0	0Aa	0Aa	5Aa	0Aa	1,25a
Média	5,0A	7,5A	2,5A	3,75A		Média	5,0A	0,0A	2,5A	0,0A	
CV(%)	176,8					CV(%)	144,2				

Oxidação aos 21 dias (%)						Calos Cicatriciais (%)					
BAP (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)					BAP (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)				
	0,0	0,5	1,0	2,0	Média		0,0	0,5	1,0	2,0	Média
0,0	0Aa	0Aa	0Aa	0Aa	0,00b	0,0	10Aa	10Aa	0Aa	0Aa	5,0b
0,5	0Aa	0Aa	0Aa	5Aa	1,25b	0,5	5Aa	5Aa	5Aa	5Aa	3,7b
1,0	0Aa	10Aa	5Aa	10Aa	6,25a	1,0	35Aa	40Aa	20Aa	20Aa	23,7a
2,0	0Aa	0Aa	5Aa	0Aa	1,25b	2,0	20Aa	20Aa	15Aa	10Aa	13,7a
Média	5,0A	7,5A	2,5A	3,7A		Média	17A	18A	10A	0B	
CV(%)	272,0					CV(%)	126,6				

(*) Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativos ao nível de 5% pelo teste Scott-Knott.

Maciel et al (2003) observaram que a adição de 2 mg.L⁻¹ de cinetina (citocinina) ao meio de cultura, sem a utilização de 2,4-D, apresentou maior frequência de calos cicatriciais em explantes

foliares de cafeeiro, resultados estes semelhantes ao presente trabalho. No entanto, Santos et al. (2000) obtiveram explantes sem qualquer tipo de reação e/ou calo cicatricial em meios de cultura que continham apenas citocinina para as cultivares Catimor e Catuaí Vermelho.

4. CONCLUSÕES

As maiores porcentagens de contaminação dos explantes são observadas nas concentrações de 0,0 e 0,5 mg L⁻¹ de BAP e na ausência de 2,4-D (aos 7 dias).

As taxas mais elevadas de contaminação dos explantes (aos 14 dias) são observadas nas concentrações de 0,0 e 0,5 mg L⁻¹ de 2,4-D e na presença de BAP (0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹).

As maiores porcentagens de calos cicatriciais são obtidas em meio de cultura de indução com concentrações de 0,0; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D e 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. A. J.; SIMIONI, K. C.; FAZUOLI, L. C.; RAMOS, L. C. S. Indução de calos de explantes foliares de genótipos de café. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas: Embrapa-Café, 2000. v. 1, p. 145-147.

DUBLIN, P. Techniques de reproduction végétative "in vitro" et amelioration génétique chez les caféiers cultivés. **Café, Cacao, Thé**, Paris, v. 28, n. 4, p. 231-244, oct./dec. 1984.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. V.35, n.6. Lavras. Nov./Dec.2011.

MACIEL, A. L. de R.; PASQUAL, M.; PEREIRA, A. R.; REZENDE, J. C. de; SILVA, A. B.; DUTRA, L. F. **Embriogênese somática indireta em explantes foliares de *Coffea arabica* L. Cv. Obatã**. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 107-116, 2003.

PIERSON, E. S; VAN LAMMENRN, A.; SCHEL, J. H.; STARITSKY, G. In vitro development of embryoids from punched leaf disc of *Coffea canephora*. **Protoplasma**, Vienne, v. 115, n. 2/3, p. 208-216, 1983.

SANTOS, A. C. P.; CORDEIRO, A. T.; CAMPOS, R. C.; OTONI, W. C.; ZAMBOLIM, L. Calogênese em *Coffea* via cultura semi-sólida. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos...** [S.l.]: EMBRAPA/CAFÉ, 2000. v. 1, p. 156-159.

TEIXEIRA, J.B.; JUNQUEIRA, C.S.; PEREIRA, A.J.P. da C.; MELLO, R.I.S. de; SILVA, A.P.D. da; MUNDIM, D.A. **Multiplicação clonal de café (*Coffea arabica* L) via embriogênese somática**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 39p. (Documentos).