

CULTIVO *IN VITRO* DE SEMENTES DO CAFEIEIRO COM DIFERENTES AMINOÁCIDOS

Henrique Y. KATAYAMA¹; Olívia T. MARTINS²; Priscila P. BOTREL³; Jéssica A. BATISTA⁴; Anna
Lygia de R. MACIEL⁵; Felipe C. FIGUEIREDO⁶

RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência de duas fontes de aminoácidos (glicina e glutamina) em três diferentes concentrações (acrescidas ao meio MS 25 mL L⁻¹; 12,5 mL L⁻¹; 0 mL L⁻¹, que foram produzidas com 80 mg L⁻¹ diluído em água destilada) na germinação de sementes e no desenvolvimento de plântulas de cafeeiro. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (2 X 3), com cinco repetições e quatro sementes por parcela. Sementes de *Coffea arabica* cultivar (Catuaí amarelo) foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultivo MS. Foram avaliados ao final de 40 dias de cultivo *in vitro* as porcentagens de germinação e contaminação, IVG, biomassa fresca, altura de plântulas e comprimento da raiz. A germinação e IVG de sementes do cafeeiro não são influenciadas positivamente pelo acréscimo de aminoácidos. Para aumentar o comprimento de raiz recomenda-se a utilização do aminoácido glicina ou 0 mL/L ou 12,5mL/L da concentração de glutamina acrescidos ao meio MS. Glicina ou glutamina proporcionam acréscimos na biomassa fresca de plântulas do cafeeiro cultivadas em meio MS.

Palavras-chave: *Coffea arabica*; Cultura de tecidos; Germinação; Glicina; Glutamina.

1. INTRODUÇÃO

O cafeeiro é uma espécie de grande importância econômica no mercado brasileiro. Minas Gerais é o maior produtor nacional de café, com números entre 29,09 e 30,63 milhões de sacas (CONAB, 2018). Vários estudos estão sendo conduzidos visando contribuir com o crescimento do cafeeiro. Através do cultivo de plântulas *in vitro* pode-se acelerar a germinação e o crescimento do vegetal, refletindo em maior produção de mudas.

Para a realização do cultivo *in vitro* de plantas é necessária a confecção de um meio de cultura contendo macronutrientes, micronutrientes, vitaminas e carboidratos entre outros componentes. Os aminoácidos armazenados durante o desenvolvimento da semente são utilizados no processo de germinação, servindo como nutrientes e substrato para o desenvolvimento inicial da plântula (DIAS et al., 2009). Entretanto, existem controvérsias sobre a utilização de aminoácidos na

¹ Graduando em Ciências Biológicas, IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho. E-mail: katayama.yuta@gmail.com

² Graduanda em Ciências Biológicas IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho. E-mail: olivia-martins93@hotmail.com.

³ Professora Orientadora, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: priscila.botrel@ifsuldeminas.edu.br.

⁴ Bióloga, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: jessikbio@hotmail.com.

⁵ Professora, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br

⁶ Professor, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: felipe.figueiredo@ifsuldeminas.edu.br

agricultura, pois poucos trabalhos científicos são encontrados demonstrando a eficiência destes produtos, principalmente em relação à sua absorção pelas sementes.

Assim, foi desenvolvido este trabalho visando avaliar a influência de fontes de aminoácidos (glutamina e glicina) e de diferentes concentrações dos mesmos no meio de cultura MS, na germinação e no desenvolvimento inicial de sementes do cafeeiro cultivadas *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Biotecnologia: Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Campus Muzambinho, MG.

Foram coletadas 150 sementes de *Coffea arabica* (cv. Catuaí amarelo) em lavoura de 3 anos, localizada no município de Nova Resende, MG, no dia 18 de fevereiro de 2018. Estas foram lavadas em água corrente e desinfetadas em cloro ativo a 1,25%, na ausência do pergaminho (retirado manualmente), sendo mantidas sob agitação por vinte minutos. Em seguida, o material vegetal foi lavado quatro vezes consecutivas com água destilada, autoclavada em câmara de fluxo laminar.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (2x3), sendo dois aminoácidos (glicina e glutamina) e três concentrações, totalizando seis tratamentos, com cinco repetições e quatro sementes por parcela. Os aminoácidos na concentração da solução estoque de 80 mg L⁻¹ foram diluídas em água destilada. Os tratamentos foram: T1: Meio MS sem aminoácidos; T2: Meio MS acrescido de 12,5 mL L⁻¹ de Glicina; T3: Meio MS acrescido de 25 mL L⁻¹ de Glicina; T4: Meio MS sem aminoácidos; T5: Meio MS acrescido de 12,5 mL L⁻¹ de Glutamina; T6: Meio MS acrescido de 25 mL L⁻¹ de Glutamina.

Utilizou-se o meio de cultura MS semissólido (MURASHIGE; SKOOG, 1962). O pH do meio foi ajustado para 5,7. Os tubos de ensaio foram vedados com tampas plásticas antes do processo de autoclavagem a 121°C e 1,5 atm, por 20 minutos e após o resfriamento, o meio foi levado à câmara de fluxo laminar, onde foi realizada a inoculação dos embriões de café individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultivo MS. Após a inoculação, estas foram mantidas em B.O.D., sob temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz.

Foram avaliadas diariamente as porcentagens de germinação e contaminação, IVG. O índice de velocidade de germinação foi calculado utilizando a fórmula de Maguire (1962). Ao final dos 40 dias após a inoculação foram avaliadas biomassa fresca e altura das plântulas e comprimento da raiz. Os dados foram analisados pelo software Sisvar (FERREIRA, 2011) e as médias obtidas foram comparadas entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve 100% de germinação em sementes de cafeeiro, submetidas a diferentes fontes e concentrações de aminoácidos no meio de cultura MS. Pôde-se observar diferença significativa para o índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de cafeeiro. A ausência de aminoácido no meio de cultura MS proporcionou maior IVG nas sementes. À medida que houve adição dos aminoácidos glicina ou glutamina, observou-se menor IVG. Na ausência de aminoácidos obtiveram-se médias superiores, sendo o T4 (6,5), seguido do T1 (5,86) (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de contaminação, índice de velocidade de germinação, média de altura, médias de comprimento de raiz e média de biomassa fresca em sementes de cafeeiro cultivadas em meio de cultura MS com diferentes fontes e concentrações de aminoácidos. Muzambinho, MG. 2018.

Aminoácidos (mL /L)	Variáveis respostas				
	% Contaminação	IVG	Altura de plântulas (mm)	Comprimento de raiz (mm)	Biomassa Fresca (g)
0 Glicina	15 a	5,86b	21,61a	46,06 b	0,4056 b
12,5 Glicina	15 a	5,46c	34,8 a	46,5 b	0,4411 b
25 Glicina	20 a	5,27c	22,71a	62,14 a	0,5125 a
0 Glutamina	20 a	6,50a	25,02a	62,22 a	0,4402 b
12,5 Glutamina	25 a	5,05c	22,39a	58,75 a	0,4009 b
25 Glutamina	10 a	5,17c	26,66a	44,94 b	0,5728 a

O enriquecimento de sementes de alfaca com aminoácidos não afeta a germinação, a emergência e o índice de velocidade de emergência das plântulas (DINIZ et al., 2007), sendo estes resultados semelhantes ao presente trabalho. Já Ludwig et al. (2011), relatam resultados contrários ao estudarem a qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, concluíram que a aplicação do aminoácido isolado PT-4-0[®] afeta positivamente a germinação.

Para porcentagem de contaminação não se verificou diferença estatística, sendo observados baixos índices de contaminação (até 25%) (Tabela 1). Para variável altura, não se obteve diferença significativa entre as médias, sendo que concentrações e fontes de aminoácidos também não interferiram nesta variável em questão. A altura média observada foi de 25,5 mm (Tabela 1).

As médias de comprimento de raiz, se diferiram, onde os tratamentos T3, T4 e T5 (glicina total, ausência de aminoácidos e ½ glutamina) foram diferentes das demais, mas não entre si, com as seguintes medidas 62,14 mm, 62,22 mm e 58,75 mm respectivamente, demonstrando melhores resultados das demais (Tabela 1).

O aminoácido glicina é um componente padrão da maioria dos meios de cultura, White (1943), Murashige e Skoog (1962) e Gamborg et al. (1968), apresentando efeito benéfico no crescimento de raiz *in vitro*. Este fato foi observado no presente experimento onde o tratamento com glicina total (padrão meio MS) proporcionou aumento no comprimento de raiz.

Para variável biomassa fresca, os tratamentos T3 e T6 com médias 0,5125 g e 0,5728 g

respectivamente, apresentaram médias superiores em relação aos demais tratamentos (Tabela 1).

4. CONCLUSÕES

A germinação e IVG de sementes do cafeeiro não são influenciadas pelo acréscimo dos aminoácidos.

A ausência de aminoácidos e utilização de 25 mL L⁻¹ do aminoácido glicina ou 12,5 mL L⁻¹ de glutamina acrescidos ao meio MS, promovem crescimento radicular.

Glicina ou glutamina na concentração de 25 mL L⁻¹ proporcionam acréscimos na biomassa fresca de plântulas do cafeeiro cultivadas em meio MS.

São necessários trabalhos futuros visando avaliações por períodos mais longos até a fase de aclimatização de plântulas do cafeeiro.

REFERÊNCIAS

CONAB. **Produção de café pode chegar a 58 milhões de sacas**. Disponível em:

<<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2242-producao-de-cafe-pode-chegar-a-58-milhoes-de-sacas-20180118>>. Acesso em: 19 abr. 2018.

DIAS, L.L.C. et al. Polyamines, aminoacids, IAA and ABA contents during *Ocotea catharinensis* seed germination. **Seed Sci. & Technol.**, v. 37, p. 42-51, 2009.

DINIZ, A. K. et al. Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de alface revestidas com diferentes doses de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento. **Revista Ciência Agronômica**, v.38, n.4, p.396-400, 2007.

FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de estatística. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.35, n. 6, p. 1039-1042, nov-dez. 2011.

GAMBORG, O. L.; MILLER, R.A; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental cell research**, v. 50, n. 1, p. 151-158, 1968.

LUDWIG, M. P. et al. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p.395-406, 2011.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

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.

WHITE, P. R. **A handbook of plant tissue culture**. LWW, 1943.