

## **PREPARO DE SEMENTES DE *Coffea canephora* cv. Tropical PARA CULTIVO *in vitro* DE EMBRIÕES**

**Renata A. MOREIRA<sup>1</sup>; Jéssica A. BATISTA<sup>2</sup>; Priscila P. BOTREL<sup>3</sup>; Leidiane PORTUGAL<sup>4</sup>; Felipe C. FIGUEIREDO<sup>5</sup>.**

### **RESUMO**

Foi conduzido o presente trabalho, visando estabelecer um protocolo de preparo de sementes de *Coffea canephora* cv. Tropical para cultivo de embriões *in vitro*. O delineamento utilizado foi DIC em esquema fatorial (4X4) : 4 métodos para remoção dos pergaminhos ( retirada manual e as embebições em soluções de 100ml, 200ml e 400ml de cloro ativo a 2,5% por 6 horas à temperatura de 25 °C e 4 períodos de embebição (36, 48, 60 e 72h ) das sementes em água destilada à 30°C para retirada dos embriões. Com relação ao IVG, na concentração de 100ml em 60h e na concentração de 400ml em 36h e 48h, proporcionaram melhores resultados. Com relação à biomassa fresca nas plântulas, na concentração de 400ml em 36h e 48h, na concentração de 200ml em 48h, assim como na concentração de 100ml em 48h e 60h apresentaram maior biomassa fresca. A maior biomassa seca foi encontrada nas plântulas emergidas em hipoclorito de sódio a 100ml e 400ml, nos tempos de 60h e 36h, respectivamente.

**Palavras-chave:** Cafeeiro; hipoclorito de sódio; Imersão.

### **1. INTRODUÇÃO**

A implantação da cultura do cafeeiro é feita por mudas, o que requer a utilização de sementes de alta qualidade. A cultura de embriões *in vitro* permite a recuperação de embriões provenientes de cruzamentos interespecíficos, multiplicação rápida do material selecionado e, com isso, antecipar a época de plantio.

O endosperma da semente de café e um tecido duro, que dificulta a retirada dos embriões. Dessa forma a pré-embebição das sementes em água é utilizada, para facilitar a extração dos embriões. De acordo com Dias e Silva (1986), é recomendável a embebição das

- 1 Universidade Federal de Lavras – UFLA. Lavras/MG - E-mail: [renata\\_amato@hotmail.com](mailto:renata_amato@hotmail.com)
- 2 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [jessikbio@hotmail.com](mailto:jessikbio@hotmail.com)
- 3 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [botrelpp@gmail.com](mailto:botrelpp@gmail.com)
- 4 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [leidiane.portugal@hotmail.com](mailto:leidiane.portugal@hotmail.com)
- 5 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: [felipe.professor@yahoo.com.br](mailto:felipe.professor@yahoo.com.br)

sementes por 18 a 24 horas a 30° C. No entanto, resultados de pesquisas têm demonstrado que este tempo é insuficiente para amolecer as sementes. Alguns autores defendem a utilização da embebição das sementes de café por maior tempo, facilitando a excisão dos embriões e a coloração dos mesmos (CLEMENTE et al., 2011; VIEIRA et al., 1998).

Diante da dificuldade de extração de embriões em sementes de cafeeiro sem causar danos de viabilidade na germinação, aliado a divergência de metodologias encontradas na literatura, foi conduzido o presente trabalho, visando estabelecer um protocolo de preparo de sementes de *Coffea canephora* cv. Tropical para cultivo de embriões *in vitro*, contribuindo assim, com pesquisas futuras de adaptabilidade desta cultivar no Sul de Minas Gerais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi instalado e conduzido no Setor de Biotecnologia: Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no IFSULDEMINAS, *Campus* Muzambinho e as sementes foram fornecidas pela PROCAFÉ em varginha.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (4X4) constituído de 4 métodos para remoção dos pergaminhos ( retirada manual e as embebições em soluções de 100ml, 200ml e 400ml de cloro ativo a 2,5% por 6 horas à temperatura de 25 °C (MEIRELES et al., 2007) ) e 4 períodos de embebição (36, 48, 60 e 72h ) das sementes em água destilada à 30°C para retirada dos embriões. Foram utilizadas 5 repetições por tratamento e 4 embriões por parcela.

Antes da retirada dos embriões, as sementes foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 40% durante 15 minutos e lavadas quatro vezes com água destilada e autoclavada já em capela de fluxo laminar.

Foram inoculados 4 embriões em frascos contendo o volume de 30 mL de meio de cultura sólido MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 6 g L<sup>-1</sup> de ágar e pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da autoclavagem.

Após a inoculação dos embriões *in vitro*, estes foram mantidos em sala de crescimento, com 25 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> de intensidade luminosa, temperatura de 25 ± 1°C e fotoperíodo de 16 horas de luz.

Foi avaliado diariamente a % de oxidação e de germinação e IVG (Índice de velocidade de germinação). Após trinta dias de cultivo, foram avaliadas a biomassa seca e fresca das plântulas.

Para as comparações de médias, foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, por meio do programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com relação ao IVG as sementes de café imersas em 100ml de hipoclorito de sódio houve diferença significativa entre os quatro tempos de imersão em água destilada, onde o tempo de 60h obteve maior IVG. O tratamento de 400ml de hipoclorito, os tempos de 36h e 48h apresentaram maior IVG. Já na remoção de pergaminho manualmente, as sementes que permaneceram imersas em água destilada por 72h apresentaram melhor IVG (tabela 1). Segundo CLEMENTE et al (2011) o período de embebição de sementes de café por 48 horas, facilita a extração dos embriões.

**Tabela 1.** Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Coffea canephora* submetidas a diferentes formas de remoção do pergaminho e tempos de imersão em água destilada.

Pergaminho	IVG			
	Tempos de Imersão			
	36	48	60	72
Manual	0 b B	3,88 bB	5,59 bB	10,78 aA
100	3,14 cB	11,56 bB	21,77 aA	0 cA
200	13,27 aA	8,15 aB	10,78 aB	0,0 bA
400	16,62 aA	19,75 aA	4,47 bB	0,0 bA

Letras minúsculas iguais em linha e letras maiúsculas iguais na coluna, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Houve diferença significativa com relação à biomassa fresca nas plântulas, na concentração de 400ml de hipoclorito o tempo de 36h e 48h imersas em água destilada, apresentaram maior biomassa, assim como na concentração de 200ml de hipoclorito o tempo de 48h. Na concentração de 100ml de hipoclorito a maior biomassa fresca foi encontrada nos tempos de 48h e 60h de imersão em água destilada. A maior biomassa seca foi encontrada nas plântulas emergidas em hipoclorito de sódio a 100ml e 400ml, nos tempos de 60h e 36h de imersão em água, respectivamente. (tabela 2). Segundo DIAS e BARROS (1993) o tempo de 72h de imersão em água pode ser prejudicial às sementes de café.

**Tabela 2.** Biomassa fresca e seca(g) das plântulas de *Coffea canephora* submetidas a diferentes formas de remoção do pergaminho e tempos de imersão em água destilada.

Pergaminho	Biomassa Fresca				Biomassa Seca			
	Tempos de Imersão				Tempos de Imersão			
	36	48	60	72	36	48	60	72
Manual	0,0 aB	0,0 aC	0,0 aB	0,0 aA	0,000 aB	0,000 aA	0,000 aB	0,000 aA
100	0,0 bB	0,02 aB	0,04 aA	0,0 bA	0,000 bB	0,000 bA	0,004 aA	0,000 bA
200	0,0 bB	0,03 aB	0,01 bB	0,0 bA	0,002 aB	0,002 aA	0,0 00aB	0,000 aA
400	0,06 aA	0,07 aA	0,0 bB	0,0 bA	0,006 aA	0,002 bA	0,000 aB	0,000 aA

Letras minúsculas iguais em linha e letras maiúsculas iguais na coluna, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott Knott.

Os tratamentos T1, T2 e T5 apresentaram 100% de oxidação. Os tratamentos T1, T14, T15 e T16 não apresentaram germinação, já tratamentos T4, T8 e T10 obtiveram maiores porcentagens, sendo estas 70%, 65% e 65% respectivamente.

#### **4. CONCLUSÕES**

Com relação ao IVG, na concentração de 100ml em 60h e na concentração de 400ml em 36h e 48h, proporcionaram melhores resultados. Com relação à biomassa fresca nas plântulas, na concentração de 400ml em 36h e 48h, na concentração de 200ml em 48h, assim como na concentração de 100ml em 48h e 60h apresentaram maior biomassa fresca. A maior biomassa seca foi encontrada nas plântulas emergidas em hipoclorito de sódio a 100ml e 400ml, nos tempos de 60h e 36h, respectivamente.

#### **AGRADECIMENTOS**

À FAPEMIG, pelo auxílio financeiro.

#### **REFERÊNCIAS**

CLEMENTE, A. C. S. et al. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 38-44, jul. 2011.

DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A. S. R. Avaliação de métodos para remoção da mucilagem de sementes de café (*COFFEA ARABICA L.*) **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 15, n.º.2 - 1993.

DIAS, M.C.L.L.; SILVA, W.R. Determinação da viabilidade de sementes de café através do teste de tetrazólio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.11, p.1139-1145, 1986.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, nov./dez. 2011.

MEIRELES, R.C.; ARAUJO, E.F.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, C.S.; SAKIYAMA, N.S.; REIS, L.S. Secafé: metodologia para acelerar a germinação das sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.90-96, 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A. Revised médium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagem, v. 15, n. 3, p. 473-479, July 1962.

VIEIRA, M. G. G. C. et al. **Testes rápidos para determinação da viabilidade e da incidência de danos mecânicos em sementes de cafeeiro**. Lavras: UFLA, 1998. 34 p. (Boletim Agropecuário, 26).