



POSIÇÃO DA FOLHA E PERÍODO DE ARMAZENAMENTO NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO CAFEIEIRO

Jaqueline dos R. de Paula¹; Mauro C. A. LOPES²; Anna L. de R. MACIEL³.

RESUMO

A embriogênese somática, consiste no desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas. Objetivou-se avaliar o período de armazenamento e a posição das folhas nos ramos plagiotrópicos do cafeeiro no controle das porcentagens de contaminação de oxidação *in vitro*. O experimento foi desenvolvido IFSULDEMINAS - Campus Muzambinho de março a abril de 2024. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3, quatro repetições e cinco explantes por parcela. Os tratamentos constaram da coleta das folhas em diferentes posições no ramo plagiotrópico (primeiro, terceiro e quinto) por diferentes períodos de armazenamento (0, 24, 48 e 72 horas). Decorridos os 28 dias de cultivo, foram avaliados: porcentagens de contaminação fúngica, de contaminação bacteriana, de oxidação e coloração. A contaminação bacteriana é considerada baixa em todos os tratamentos. A oxidação diminui quando os explantes tem origem nos primeiro, terceiro e quinto pares de folhas, armazenados por 0 e 24 horas. Explantes do primeiro par de folhas, armazenados por 0, 24 e 72 horas apresentam maior porcentagem de amarelecimento.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L.; Contaminação; Embriogênese somática. Oxidação fenólica.

1. INTRODUÇÃO

A indução de embriogênese somática está relacionada a alterações no padrão de expressão gênica nos explantes, com reprogramação das células que estarão envolvidas no processo embriogênico. De acordo com as próprias características morfológicas, anatômicas e funcionais das estruturas formadas, poderá ou não ocorrer diferenciação dos embriões somáticos na fase em que as estruturas embriogênicas se formam (MERKLE et al., 1995).

O explante a ser utilizado é determinante para o sucesso do processo de embriogênese somática (CARVALHO; VIDAL, 2003). Partes da planta como gemas, raízes, células isoladas, protoplastos (célula sem parede celular), semente, embriões zigóticos e anteras podem ser utilizados como início de cultivo *in vitro*, no entanto, as folhas são os explantes utilizados na embriogênese somática do cafeeiro.

O objetivo do trabalho foi avaliar o período de armazenamento e a posição das folhas nos ramos plagiotrópicos do cafeeiro no controle das porcentagens de contaminação (fúngica e bacteriana) e de oxidação *in vitro*.

¹Discente Superior em cafeicultura, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: jaqueline.paula@aluno.ifsuldeminas.edu.br

²Discente da Engenharia Agrônômica, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: mauro.lopes@aluno.ifsuldeminas.edu.br

³Orientadora, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

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 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 agrônômicas superiores por parte dos cafeicultores (CARVALHO et al., 2013).

A contaminação bacteriana e fúngica é um dos principais problemas na micropropagação, podendo ser encontrada na superfície do explante e também no interior dos tecidos, chamada de endógena, comumente encontrada em plantas provenientes do campo (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006).

Assim como as contaminações, a oxidação fenólica é um dos problemas mais preocupantes, principalmente quando se faz o estabelecimento de cultura *in vitro* de explantes de espécies lenhosas (TEIXEIRA, 2005), como o cafeeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado do IFSULDEMINAS, *Campus Muzambinho*, MG, de março a abril de 2024. Para o cultivo *in vitro*, foram coletadas folhas de *Coffea arabica* L. cv. Paraíso MG H 419-1.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x3, com quatro repetições e cinco explantes por parcela. Os tratamentos constaram da coleta das folhas do terço médio do cafeeiro em diferentes posições no ramo plagiotrópico (primeiro, terceiro e quinto pares de folhas) e por diferentes períodos de armazenamento das folhas em temperatura de 4°C (0, 24, 48 e 72 horas).

Após a coleta e os períodos de armazenamento, de acordo com cada tratamento, as folhas foram lavadas em água corrente e detergente neutro. Posteriormente, as folhas foram imersas em álcool 70% durante 1,5 min, e em seguida para a desinfestação com solução de hipoclorito de sódio a 1,25% de cloro ativo durante 20 minutos. Após, o material vegetal foi levado à câmara de fluxo laminar horizontal e lavado por três vezes consecutivas com água destilada e autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi o meio inicial de cultivo MI, fazendo uso de metade dos sais do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e acrescido de maltose: 0,4 g L⁻¹, 2,4 D: 0,04 g L⁻¹, AIB: 1 mL L⁻¹, BAB: 2 mL L⁻¹, sacarose: 40 g L⁻¹, ágar 8 g L⁻¹ e com pH foi ajustado em 5,6 ± 0,1. O meio foi esterilizado em autoclave por 20 minutos a 120°C e 1,5 atmosfera de pressão.

Os explantes foliares foram cortados com medidas próximas a 1 cm², com o auxílio de bisturi e pinça na câmara de fluxo laminar. Logo, estes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10

mL de meio de cultura. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento, à 27°C ± 1°C em ausência total de luz por um período de 28 dias. Decorridos os 28 dias de cultivo, foram avaliados os parâmetros: porcentagens de contaminação fúngica, de contaminação bacteriana, de oxidação fenólica e coloração dos explantes. As avaliações foram realizadas através de observação visual, constatando a presença das contaminações fúngica e bacteriana e da oxidação fenólica dos explantes

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o emprego do Software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), sendo a diferença determinada pelo teste F. Detectando-se diferenças, as médias serão agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, houve interação significativa entre os fatores analisados para as características porcentagens de oxidação fenólica e coloração dos explantes.

Tabela 1: Avaliação das porcentagens de contaminações fúngica e bacteriana, oxidação fenólica e coloração amarelada dos explantes foliares de cafeeiro coletados de diferentes pares de folhas nos ramos plagiotrópicos e armazenados em diferentes períodos de tempo. Muzambinho – MG. 2024.

Posição da folha	Período de Armazenamento das Folhas (horas)				Média
	0	24	48	72	
----- Contaminação Fúngica (%) -----					
Primeiro	10,00Aa	10,00Aa	22,00Aa	55,00Aa	24,37
Terceiro	45,00Aa	10,00Aa	16,50Aa	35,00Aa	26,62
Quinto	5,00Aa	20,00Aa	15,00Aa	75,00Bb	28,75
Média	20,00	13,33	28,83	44,16	
CV (%)	79,19				
----- Contaminação Bacteriana (%) -----					
Primeiro	5,00Aa	5,00Aa	0,00Aa	0,00Aa	2,50
Terceiro	5,00Aa	0,00Aa	10,00Aa	5,00Aa	5,00
Quinto	0,00Aa	0,00Aa	0,00Aa	10,00Aa	2,50
Média	3,33	1,67	3,33	5,00	
CV (%)	259,37				
-----Oxidação Fenólica (%) -----					
Primeiro	41,25Aa	37,50Aa	93,75Bb	47,75Aa	57,61
Terceiro	38,75Aa	25,00Aa	68,75Ba	70,00Ba	45,06
Quinto	18,75Aa	50,00Aa	100,0Ba	87,50Ba	64,06
Média	32,91	37,50	87,50	64,67	
CV (%)	48,89				
----- Coloração Amarelada dos Explantes (%) -----					
Primeiro	100,0Bb	100,0Bb	25,00Aa	100,0Bb	81,25
Terceiro	65,00Ba	60,00Ba	65,00Bb	68,75Aa	66,25
Quinto	65,00Aa	70,00Aa	80,00Ab	53,75Aa	67,50
Média	96,67	88,33	56,67	74,16	
CV (%)	51,23				

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A maior porcentagem de contaminação fúngica foi observada entre os explantes coletados no terceiro par de folha verdadeira do ramo plagiotrópico no período de armazenamento de 72 horas,

para os demais tratamentos não houve interação entre os fatores (Tabela 1).

De acordo com a Tabela 1, pôde-se observar que, para a contaminação bacteriana, não houve diferença significativa entre os tratamentos, apresentando porcentagens consideradas baixas para o cultivo *in vitro* de explantes de cafeeiro.

As menores porcentagens de oxidação fenólica foram observadas nos tratamentos constituídos pelos explantes armazenados pelo período de 0 e 24 horas, independente da localização dos pares de folhas nos ramos ortotrópicos (Tabela 1).

No tratamento onde foram utilizados explantes oriundos primeiro par de folhas e armazenado por 48 horas, apresentaram apenas 25% de amarelecimento, enquanto àqueles retirados das folhas do primeiro par e inoculados após a coleta e armazenados por 24 e 72 horas apresentaram maior porcentagem de amarelecimento (Tabela 1).

5. CONCLUSÕES

Os explantes, independente, da posição do par de folhas coletados da planta matriz e do tempo de armazenamento, apresentam baixas porcentagens de contaminação bacteriana.

A oxidação dos tecidos diminui quando os explantes tem como origem o primeiro, o terceiro e o quinto pares de folhas, armazenados por 0 e 24 horas.

Explantes do primeiro par de folhas inoculados após a coleta e armazenados por 24 e 72 horas apresentam maior porcentagem de amarelecimento.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, C.H.S. de *et al.* Custo de Produção de Mudanças Clonais de Café Arábica Produzidas por Embriogênese Somática. **Embrapa**, Brasília. Df, v. 3, n. 10, p. 01-10, abr. 2013.

CARVALHO, J.M.F.C.; SILVA, M.M.A.; MEDEIROS, M.J.M. Fatores Inerentes à Micropropagação. **Embrapa**, Campina Grande, Pb, v. 148, n. 28, p. 01-28, ago. 2006.

CARVALHO, J.M.F.C.; VIDAL, M.S. Noções de Cultivo de Tecidos Vegetais. **Embrapa**, Campina Grande, Pb, v. 116, n. 41, p. 01-41, out. 2003.

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

MERKLE, S.; PARROTT, W.; FLINN, B.S. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: THORPE, T.A. (Ed.) **In vitro embryogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. p. 155-203.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473- 479, June 1962.

TEIXEIRA, J.B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. Brasília: Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, [s.d]. 2005.