

INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NO DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES SOMÁTICOS DE *Coffea arabica*.

A.C. R. Santos, Pesquisadora Fundação Procafé, J. C. de Rezende, Pesq. Epamig Lavras; M. Pasqual, Prof. Dr. Titular Dpto. de Agricultura, J.B. Teixeira, Pesquisador Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. H. S. de Carvalho, Pesquisador Embrapa Café,

Na cultura de tecidos, a adição de reguladores de crescimento ao meio nutritivo é de suma importância. Objetivando avaliar o efeito de IBA e de BAP na fase final de desenvolvimento de embriões somáticos de *Coffea arabica*, foi conduzido um experimento no Laboratório de Cultura de Tecidos da Fundação Procafé, em Varginha, MG. Segmentos de folha do clone 20 (grupo Catucaí) foram inoculados em placas de Petri contendo o meio primário (PM) e, após um mês, transferidos para o meio secundário (SM), segundo o protocolo de Teixeira et al. (2004). Aos 180 dias após a inoculação dos explantes, os setores embriogênicos foram transferidos para o meio de regeneração, segundo o mesmo protocolo, suplementado com 1g.L^{-1} de prolina, onde permaneceram por mais 70 dias, até a formação de embriões globulares. Ao final deste período, os embriões permaneceram por 120 dias em biorreatores do tipo RITA[®], contendo o meio de regeneração (R) de Boxtel & Berthouly (1996), até que as folhas cotiledonares estivessem bem desenvolvidas. Esses embriões em estágio cotiledonar foram utilizados como explantes no presente trabalho, a fim de completarem o desenvolvimento até o estágio de plântulas. Os tratamentos constituíram das seguintes variações no meio de crescimento (PRM) de Teixeira et al. (2004): meio PRM (tratamento 1), meio PRM sem BAP (tratamento 2), meio PRM acrescido de $1,47\mu\text{M}$ de IBA (tratamento 3) e meio PRM sem o BAP acrescido de $1,47\mu\text{M}$ de IBA (tratamento 4). Dessa forma, para as análises estatísticas, foi isolado o efeito do BAP e do IBA e os tratamentos foram arrançados em um esquema fatorial 2×2 (presença e ausência de BAP, presença e ausência de IBA). A avaliação do experimento foi realizada três meses após a instalação, analisando-se as variáveis comprimento da parte aérea, porcentagem de plântulas com raízes e porcentagem de plântulas normais. Foram contabilizadas como plantas normais somente àquelas que apresentaram aspecto normal, ou seja, fenótipo semelhante ao de plantas provenientes de sementes e parte aérea bem desenvolvida e vigorosa. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento.

Resultados e Conclusões:

Comprimento da parte aérea

Na presença de BAP, o comprimento da parte aérea foi estatisticamente igual na presença ou na ausência de IBA e, na ausência de BAP, este comprimento foi estatisticamente superior na ausência de IBA do que na sua presença (Tabela 1). Da mesma forma, na presença de IBA, o comprimento médio das plantas é estatisticamente igual ao comprimento na presença ou na ausência de BAP. Na ausência de IBA, o comprimento foi estatisticamente superior na ausência de BAP. Verifica-se ainda, que houve maior comprimento da parte aérea na ausência de ambos os reguladores de crescimento.

TABELA 1 Valores médios do comprimento da parte aérea de plantas de *C. arabica*, segundo os tratamentos estudados. Fundação Procafé, Varginha, MG, 2008.

IBA ($1,47\mu\text{M}$)	BAP ($1,33\mu\text{M}$)	
	Com	Sem
Com	1,92a A	1,87b A
Sem	1,81a B	2,44a A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste t de Student, a 5% de significância.

Porcentagem de plântulas com raízes

Os efeitos principais da adição de IBA e de BAP ao meio de cultura foram significativos (Tabela 2). Observa-se, pelos dados da Tabela 2, que o Tratamento 3, constituído pelo meio PRM acrescido de $1,47\mu\text{M}$ de IBA, não apresentou formação de sistema radicular, sendo estatisticamente inferior aos demais tratamentos estudados. Esse resultado pode ser atribuído à possibilidade de que os níveis naturais de auxina e citocinina das plantas tenham sido suficientes para proporcionar o desenvolvimento de raízes. No presente trabalho é possível também que os reguladores de crescimento utilizados nos meios anteriores à fase de formação de plântulas tenham condicionado um efeito

residual, proporcionando condições adequadas ao desenvolvimento de raízes, dispensando o uso de reguladores nesta fase de desenvolvimento dos embriões somáticos.

TABELA 2 Valores médios de plântulas de *C. arabica* com raízes, segundo os tratamentos estudados. Fundação Procafé, Varginha, MG, 2008

IBA (1,47 μ M)	BAP (1,33 μ M) ¹	
	Com	Sem
Com	0,00 b B	39,44 a A
Sem	42,69 a A	54,64 a A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste t de Student, a 5% de significância.

Porcentagem de plântulas normais

Cerca de 60% dos embriões cotiledonares colocados nos meios em estudo não se desenvolveram bem, formando plântulas muito pequenas, com baixo desenvolvimento da parte aérea ou plântulas anormais. A adição de IBA e de BAP, isoladamente, ou em conjunto, não aumentou a formação de plântulas normais. Observou-se que, na ausência do BAP, houve desenvolvimento de 44,84% de plântulas normais e, na presença deste regulador, esta porcentagem foi de 36,50%. Esta porcentagem foi bastante semelhante quando considerados os níveis de IBA (40,53% e 40,81% de plântulas normais na presença e na ausência do regulador, respectivamente). Dessa forma justifica-se a utilização do meio de cultura sem a adição desses reguladores, com o objetivo de redução dos custos. Vale ressaltar que as plântulas normais obtidas no presente trabalho foram transferidas para casa de vegetação, apresentando desenvolvimento normal e fenótipo idêntico ao de plantas originadas por sementes. Conclui-se que no protocolo empregado não há necessidade da adição de IBA e BAP para a conversão de embriões somáticos em estágio cotiledonar para plântulas de *C. arabica*.