

# INFLUÊNCIA DO BENOMYL E BENZILAMINO PURINA SOBRE A PROLIFERAÇÃO *IN VITRO* DO CAFÉ Cv. CATUAÍ<sup>1</sup>

Gladyston Rodrigues Carvalho<sup>2</sup>  
Moacir Pasqual<sup>2</sup>  
Luís Eduardo Corrêa Antunes<sup>2</sup>  
José Darlan Ramos<sup>2</sup>  
Ana Lygia Resende Maciel<sup>2</sup>

## 1. INTRODUÇÃO

A multiplicação *in vitro* é considerada de grande importância para a propagação, em larga escala, de genótipos excepcionais obtidos no melhoramento genético ou mesmo de variações induzidas *in vitro*, cuja fixação, por via sexual, seria muito longa e cara.

As pesquisas sobre a multiplicação vegetativa *in vitro* de plantas de interesse econômico são cada vez mais numerosas, como a do café, por causa, principalmente, dos países exportadores. As técnicas de cultura de tecidos têm possibilitado, além da obtenção de grande número de plantas, a diminuição do tempo necessário para a produção e a garantia da uniformidade genética do material.

Os trabalhos pioneiros com café, em cultura de tecidos, foram publicados por STARITSKY (11), que teve êxito na indução de calos a partir de folhas de várias espécies e produção de embriões somáticos na espécie *C. canephora*. Depois disso, muitos trabalhos foram realizados em diferentes países, usando métodos e espécies diversos.

---

<sup>1</sup>Aceito para publicação em 13/07/1995.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras/Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37. 37200-000 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

As duas espécies mais importantes, *C. arabica* e *C. canephora*, são tradicionalmente propagadas por via da semente. *C. arabica* é planta autógama e, assim, as progênies são muito uniformes, enquanto em *C. canephora*, alógama, as progênies são altamente heterogêneas.

Genótipos favoráveis de plantas alógamas podem ser obtidos por via assexual, resultando em plantas idênticas a matrizes excepcionais (10).

A partir da hibridação e seleção de germoplasma de *C. arabica*, necessita-se de aproximadamente 30 anos para dispor de um novo cultivar. A falta de metodologia para se multiplicar assexualmente o material em quantidades comerciais tem sido a restrição mais importante no uso da propagação vegetativa para o melhoramento genético da espécie (4).

Toda técnica que permita aumentar desde o começo a taxa de multiplicação, manter as características genéticas e acelerar a instalação de determinada cultura em viveiros apresenta interesse real para o melhoramento genético destas plantas (4).

A cultura de tecidos em café representa grande potencial a ser explorado como instrumento para auxiliar o melhoramento genético.

O material genético de *C. arabica* apresenta um "pool" muito estreito de genes. A produção comercial na mesma população resulta num pequeno avanço genético. A indução de mutações poderá oferecer uma gama de variedades para o produtor. No caso de plantas com elevado nível de alogamia (*C. canephora*), em que as progênies são altamente heterogêneas, pelos métodos de cultura de tecidos é possível propagar matrizes excepcionais (10).

Os métodos *in vitro* oferecem o potencial de se obter altas taxas de multiplicação a partir de segmentos de tecidos muito pequenos e de conseguir grande número de indivíduos isentos de microrganismos em espaços bastante reduzidos. Como as sementes de café perdem a viabilidade num curto espaço de tempo e o intercâmbio de germoplasma está limitado pelo perigo da disseminação de pragas e doenças, como ferrugem, broca e nematóides, os métodos de cultivo na cultura de tecidos oferecem alternativas viáveis para amenizar estes problemas. A conservação de germoplasma *in vitro* reduz custos e elimina riscos de perdas por diversos imprevistos (7).

A cultura do café apresenta inúmeras variedades que podem sofrer segregação, pois muitas vezes não estão estabilizadas. Pode-se, pela micropropagação, formar clones e evitar este problema (8).

Para a micropropagação, o explante terá um par de folhas reduzido à metade e um fragmento de entrenó. Os melhores explantes são fragmentos de talos ortotrópicos com gemas preexistentes (5).

Na cultura *in vitro*, células, tecidos ou órgãos são isolados do orga-

nismo e cultivados em condições assépticas, num meio de cultura cuja composição física e química é perfeitamente conhecida. Estas culturas são tratadas adequadamente por balanço nutricional e hormonal, estabelecendo-se condições ambientais bem controladas (1).

Os teores relativos, flutuantes entre auxinas e citocininas, determinam o desenvolvimento preponderante em brotos, raízes ou calos, submetidos posteriormente à manipulação (2).

CUSTER *et al.* (3), na tentativa de propagar o cafeeiro *C. arabica in vitro* pelos segmentos nodais, registraram baixa taxa de multiplicação - 2,2 novos brotos/explante - usando meio de Murashige e Skoog (MS), acrescido de benzilaminopurina (BAP) 9,9 mg/l e ácido indol acético (AIA) 0,1 mg/l. Os mesmos autores, trabalhando com diversas citocininas, dentre elas o BAP, visando ao desenvolvimento de gemas axilares, obtiveram o melhor resultado após sete semanas de cultivo e BAP 10 mg/l com média de 2,8 gemas/nó. As outras citocininas não foram tão satisfatórias como o BAP.

O benomyl é fungicida sistêmico, sendo absorvido e translocado por células e órgãos vegetais e por isso protege não só o meio de cultura, mas também o material vegetal da contaminação fúngica (12). Além de controlar as contaminações fúngicas, Becker (1971), citado por YANG (12), observou que esse fungicida possui algumas propriedades reguladoras de crescimento.

Alguns trabalhos têm sido feitos para evidenciar esse efeito de regulador de crescimento, sem o propósito de determinar a natureza da(s) substância(s) que apresenta(m) atividade semelhante à citocinina no preparo comercial. MOREIRA (9) evidenciou efeitos positivos do benomyl sobre a propagação *in vitro* de *Citrus sunki*.

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar o efeito do BAP e benomyl na proliferação de brotos de café *in vitro*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras (MG).

Utilizaram-se explantes preestabelecidos *in vitro* de Café - *Coffea arabica* L. cv. Catuaí 2077-2-5-44.

O experimento foi realizado em laboratório em condições assépticas, utilizando-se meio "MS" suplementado com reguladores de crescimento e benomyl, conforme os tratamentos.

Os reguladores de crescimento foram dissolvidos em hidróxido de sódio (NaOH) a 1,0N e adicionados ao meio de cultura no final do prepa-

ro. O benomyl foi dissolvido em água, formando uma pasta até a diluição final.

O pH do meio foi ajustado para 5,9 e o meio solidificado com 7,0 mg/L de ágar. Após o preparo do meio, foram inoculadas três brotações com 3 a 4 cm por frasco. Em seguida o material foi transferido para sala de crescimento e mantido à temperatura de 22 a 23°C e fotoperíodo de 16 horas.

As concentrações de benomyl utilizadas foram 0, 100, 200, 300, 400 mg/L e as de BAP foram 0,0; 3,0; 6,0; e 9,0 mg/L.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 5 x 4, com cinco repetições e três explantes por parcela.

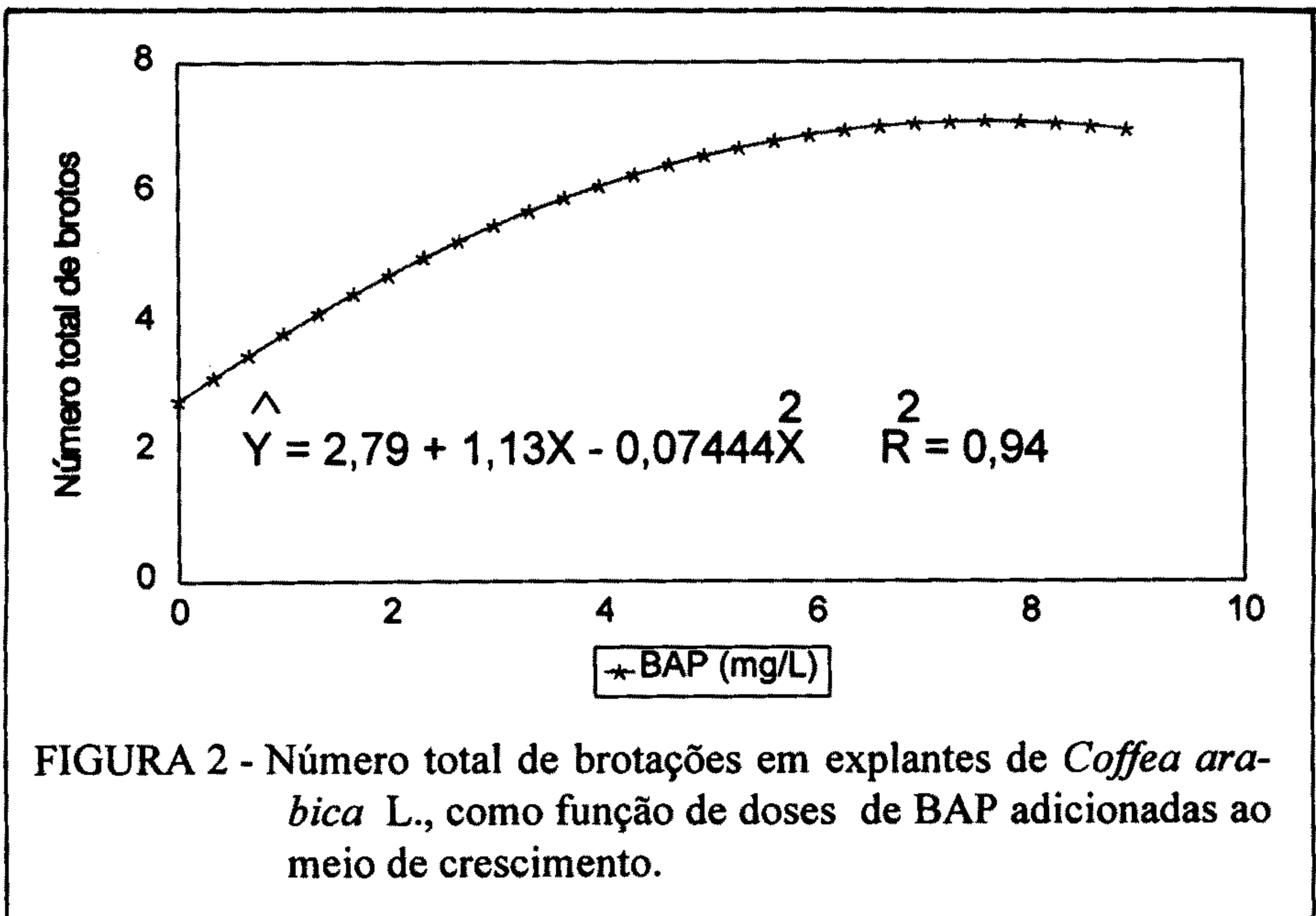
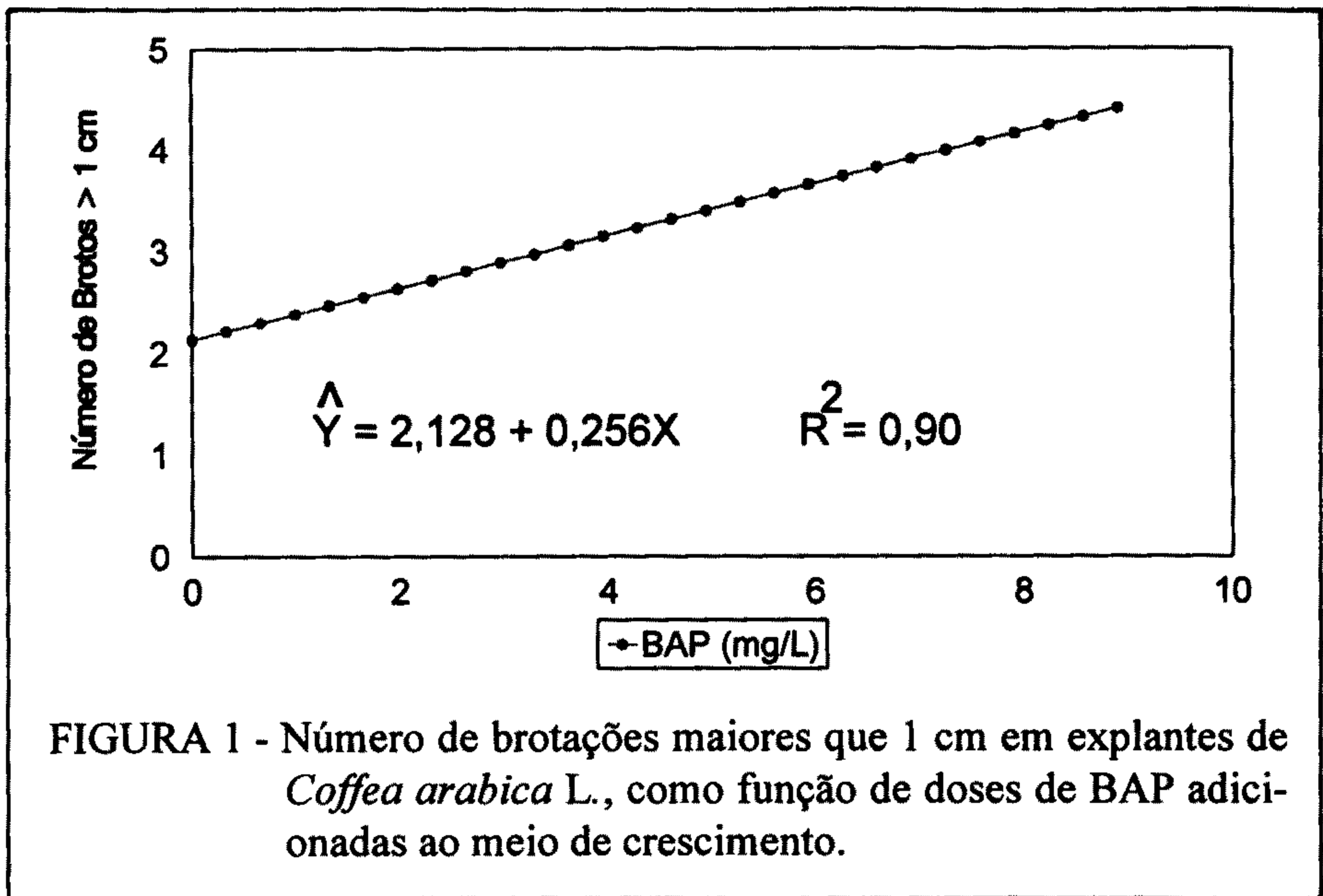
A avaliação foi realizada aos 120 dias, pelo número total de brotos, comprimento de brotos e número de brotos maiores ou iguais a 1,0 cm.

### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

Pelos resultados obtidos na análise de variância, observou-se que, para a característica comprimento médio de brotos, não houve efeito significativo do BAP nem do benomyl.

Para as características número de brotos maiores ou iguais a 1 cm e número total de brotos houve efeito significativo a 1% de probabilidade apenas do fator BAP, não ocorrendo efeito do benomyl sobre essas variáveis. Estes resultados diferem daqueles apresentados por MOREIRA (9), que obteve efeito significativo do benomyl sobre o número de brotos maiores ou iguais a 1 cm de *Citrus sunki*, nos quais houve tendência de aumento do número de brotos maiores ou iguais a 1 cm com o aumento da concentração do produto (100 mg/L), decrescendo com concentrações mais elevadas (150 mg/L). Constatada a significância para BAP, procedeu-se ao estudo da análise de regressão para as características estudadas. Pela Figura 1 observa-se que a equação de regressão linear foi a que melhor se ajustou a distribuição dos dados relativos ao número de brotos maiores ou iguais a 1 cm, e foi dada por  $\hat{Y} = 2,128 + 0,256X$ . Observou-se que com o aumento da concentração de BAP ocorreu aumento linear do número de brotos maiores ou iguais a 1 cm. Estes resultados concordam com os de FORNI (6), que afirma que com o aumento das concentrações de BAP há um aumento do número de brotos de *Coffea arabica* maiores que 1 cm.

Quanto ao efeito de BAP sobre número total de brotos de *Coffea arabica*, verifica-se, pela Figura 2, que com o aumento da concentração de BAP até 6 mg/L ocorreu aumento progressivo da característica, atingindo o ponto máximo com 7,59 mg/L com posterior decréscimo.



MOREIRA(9), avaliando o efeito de BAP e benomyl sobre o número total de brotos de *Citrus sunki* propagado *in vitro*, observou efeito dos dois fatores estudados e interação entre eles e verificou que, quando utilizou 0 mg/L de BAP com doses crescentes de benomyl, ocorreu aumento no número de brotações e que o ponto máximo da concentração de BAP ocorreu

com 2,08 mg/L, com 100 mg/L de benomyl correspondendo a 18 brotações.

#### 4. CONCLUSÕES

- 1) O fungicida benomyl não foi eficiente em promover a proliferação de brotos *in vitro* de *Coffea arabica* L.;
- 2) A presença de BAP no meio de cultura favoreceu a multiplicação dos brotos de *Coffea arabica* L., bem como o seu desenvolvimento; e
- 3) O número máximo de brotos foi obtido com 7,59 mg/L de BAP.

#### 5. RESUMO

O presente trabalho foi realizado no laboratório de cultura de tecidos da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e teve como objetivo avaliar o efeito do BAP e benomyl na propagação *in vitro* de *Coffea arabica* L. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4 x 5 com cinco repetições e três explantes por parcela. As concentrações de BAP utilizadas foram 0, 3, 6 e 9 mg/L e de benomyl 0, 100, 200, 300 e 400 mg/L. Após inoculação do material em condições assépticas em meio "MS", suplementado de acordo com os tratamentos, os frascos foram transferidos para sala de crescimento e mantidos à temperatura entre 22<sup>o</sup> e 23<sup>o</sup>C e fotoperíodo de 16 horas. As avaliações foram realizadas 120 dias após a inoculação dos explantes, avaliando-se número total de brotos, número de brotos maiores ou iguais a 1 cm e comprimento médio de brotos. Benomyl não mostrou efeito sobre as características avaliadas, entretanto BAP na concentração de 7,59 mg/L proporcionou resultados superiores tanto em número total de brotos como em número de brotos maiores ou iguais a 1 cm.

#### 6. SUMMARY

(INFLUENCE OF BENOMYL AND BENZILAMINOPURINA ON "IN VITRO" PROLIFERATION OF CV. CATUAÍ COFFEA BUDS)

This work was carried out at the tissue culture laboratory of the Federal University of Lavras-MG (UFLA) to evaluate the effect of BAP and benomyl on "in vitro" propagation of *Coffea arabica*. The experimental design was completely randomized in a 4 x 5 factorial scheme with 5 replications and 3 explants per plot. The BAP and benomyl concentrations used were 0, 3, 6 and 9 mg/L and 0, 100, 200, 300 and 400 mg/L, respec-

tively. After inoculation of the material under aseptic conditions in a "MS" environment, supplemented according to the treatments, the containers were transferred to the growth room and kept at a temperature between 22 and 23°C and photoperiod of 16 hours. The evaluation was conducted 120 days after inoculation of the explants, covering the total number of buds, number of buds of 1 cm or more and the average length of buds. Benomyl did not have any effect on the characteristics evaluated. However, BAP in 9 mg/L concentration presented superior results in total number of buds as well as in buds of 1 cm or more.

## 7. LITERATURA CITADA

1. BANDEL, G.; CARVALHO, F.J.P.C.; CROCOMO, O.J.; SHARP, W.R.; GUTIERREZ, L.E. & CARVALHO, P.C.T Aspectos citológicos da diferenciação de tecidos de cafeeiros cultivados "in vitro". *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, 32: 717-724, 1975.
2. CAMBRONY, H.D. & SNOECK, J. Hormones et régulateurs de croissance dans les cultures de caféiers et de cacaoyers. *Café, Cacao, Thé*, 27 (2): 113-119, 1983.
3. CUSTER, J.B.M.; Van, EE, G. & BUIJS, L.C. *Clonal propagation of Coffea arabica by nodal culture*. In: INTERNATIONAL SCIENCE COLLOQUIUM ON COFFEE, 9., Londres, 1980. Paris, ASIC, p.586-596.
4. DUBLIN, P. Techniques de reproduction végétative "in vitro" et amélioration génétique chez les caféiers cultivés. *Café, Cacao, Thé*, 28 (4): 231-244, 1984.
5. DUBLIN, P. Multiplicación vegetativa de café, hevea e cacao. In: ROCA, N.M. & MROGINSKI, L.A. (ed.). *Cultivo de Tejidos en la Agricultura, Fundamentos e Aplicaciones*. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. p.621-642.
6. FORNI, R.C. *Níveis de "MS", BAP, número de gemas dos explantes e período de repicagem na produção de brotos, folhas e matéria seca e, níveis de 2,4-D e cinetina para tamanho e fenótipo dos calos de Coffea arabica L. cv. Catuaí Vermelho CH 207-2-5-44*. Lavras, ESAL, 81p. 1993 (Dissertação de Mestrado).
7. LONDOÑO, M.E.A. de; PIZZINI, W.R. & RODRIGUEZ, J. Cultivo de meristemas de café. *Cenicafé*, 38 (3): 106-111, 1981.
8. PASQUAL, M. & PINTO, J.E.B. *Melhoramento de café (Coffea arabica L.) através de métodos de cultura de tecidos*. Lavras, ESAL, 1988, 13p.
9. MOREIRA, M.A. *Efeitos do benomyl e do ácido indolbutírico na propagação in vitro do porta-enxerto Citrus sunki Hort. ex. Tan.* Lavras, ESAL, 1993. 56p. (Dissertação de mestrado).
10. SONDAHL, M.R.; MONACO, L.C. & SHARP, W.R. In vitro methods applied to coffee. In: THORPE, T.A.(ed). *Plant tissue culture: methods and applications in agriculture*. New York, Academic Press, 1981, p. 325-347.
11. STARITSKY, G. Embryoid formation in callus tissue of coffee. *Acta Botanica Neerlandica*, 19:(4): 509-514, 1970.
12. YANG, H.J. Effect of benomyl on *Asparagus officinalis* L. shoot and root development in culture media. *HortScience*, 11 (5): 473-474, 1976.