

## PERFIL ISOENZIMÁTICO EM SEMENTES DE CAFÉ PRODUZIDAS SOB MANEJO ORGÂNICO<sup>1</sup>

Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa<sup>2</sup>, Luciana Aparecida de Souza Abreu<sup>3</sup>, Iara Alves Ferreira<sup>4</sup>, Felipe de Lima Vilela<sup>5</sup>, Édila Resende Vilela Von Pinho<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Trabalho financiado pela Embrapa/Prodetab, com apoio da UFLA, CNPq e FAPEMIG

<sup>2</sup> Pesquisadora, Ph.D., Embrapa Café, Setor de Sementes/UFLA, Lavras – MG, sttelarosa@embrapa.br

<sup>3</sup> Pesquisadora, D.Sc., Embrapa/UFLA, Lavras – MG, luapsouza2003@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Eng. Agrônoma, Dow Agrosiences, Jardinópolis – SP, iaferreira@dow.com

<sup>5</sup> Eng. Agrônomo, Monsanto, felipevilela15@gmail.com

<sup>6</sup> Professora, D.Sc., UFLA, Lavras – MG, edila@ufla.br

**RESUMO:** A produção orgânica visa à busca do equilíbrio de sistemas agropecuários com a natureza, não utilizando agrotóxicos, os quais desequilibram o ecossistema e eliminam os inimigos naturais. Assim no manejo orgânico são utilizadas diferentes fontes de matéria orgânica que resultam em efeitos de nutrição variados e por consequência podem afetar a qualidade de sementes, a qual, dentre vários fatores, está também relacionada à existência de enzimas do sistema oxidativo. Objetivou-se neste trabalho avaliar alterações no perfil de expressão de sistemas isoenzimáticos em sementes de café produzidas em lavouras conduzidas sob manejo orgânico. O delineamento experimental foi látice balanceado 4x4 com cinco repetições, em esquema fatorial 3x2x2, mais quatro tratamentos adicionais, além da testemunha produzida com adubação convencional. O fatorial corresponde a três fontes de matéria orgânica (esterco bovino, cama de aviário e farelo de mamona), com e sem resíduo vegetal (casca de café), com e sem adubação verde, com feijão guandu (*Cajanus cajan* L). A qualidade das sementes foi avaliada por meio de testes fisiológicos e também por eletroforese dos sistemas enzimáticos álcool desidrogenase, sorbitol desidrogenase, peroxidase, catalase, esterase, superóxido dismutase, glutamato desidrogenase. Pelos resultados obtidos não foram observadas diferenças na qualidade fisiológica das sementes de café ou nos padrões isoenzimáticos, devidas aos tratamentos de manejo orgânico e convencional de adubação.

**Palavras-chaves:** *Coffea* sp., cafeicultura orgânica, isoenzimas, qualidade de sementes.

## ISOENZYME PATTERNS IN COFFEE SEEDS PRODUCED UNDER ORGANIC MANAGEMENT

**ABSTRACT:** Organic production aims at the balance of agricultural and livestock systems with Nature, not making use of pesticides, which unbalance the ecosystem and eliminate the natural enemies. So, in organic management are utilized different sources of organic matter which result into different nutrition effects and as a consequence, they can affect seed quality, which among several factors, is also related to the existence of oxidative system enzymes. Evaluating changes in the expression pattern of isoenzyme systems in coffee seeds produced in crops conducted under organic management was intended. The experimental design was balanced lattice 4x4 with five replicates in a factorial scheme 3x2x2, plus four additional treatments, in addition to the control produced with conventional fertilization. The factorial corresponds to three sources of organic matter (cattle manure, broiler litter and castor bean meal), with and without plant residue (coffee husks), with and without green manuring with pigeon peas (*Cajanus cajan* L). Seed quality was evaluated by means of physiological tests and also by electrophoresis of the enzyme systems alcohol dehydrogenase, sorbitol dehydrogenase, peroxidase, catalase, esterase, superoxide dismutase, glutamate-dehydrogenase. From the obtained results; no differences in the physiological quality of the coffee seeds or in the enzyme patterns due to the treatments of organic and conventional fertilization were found.

**Key words:** *Coffea* sp., organic coffee growing, isoenzymes, seed quality.

## INTRODUÇÃO

A produção de café em sistema orgânico tem despertado o interesse dos produtores em virtude do crescimento da demanda por alimentos orgânicos nos mercados nacional e internacional. O café orgânico é um produto diferenciado, de maior valor agregado, cujo mercado tem crescido e se fortalecido ao longo dos anos (Caixeta, 2000).

O cultivo sem o uso de agrotóxicos e utilização de matéria orgânica, além de preservar o solo, a biodiversidade da lavoura e poupar a saúde dos trabalhadores, é também uma alternativa para fugir da competição internacional no

mercado de café *commodity*, sem diferenciação ou marca que ainda compõe a produção nacional. Assim, a cafeicultura orgânica se constitui numa alternativa que beneficia a agricultura familiar e agrega valor ao produto (Lima et al., 2002).

Vários são os fatores que afetam a qualidade fisiológica das sementes, entre eles, merece destaque o estado nutricional da planta. Resultados de pesquisa referentes ao efeito de adubações na qualidade fisiológica de sementes de café são poucos e inconsistentes, a maioria, enfatizando o efeito da adubação na produtividade, sem correlacioná-la com a qualidade das sementes. A análise de isoenzimas tem possibilitado o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis e específicos na determinação da qualidade fisiológica de sementes.

Assim, objetivou-se neste trabalho investigar o efeito de diferentes técnicas de manejo orgânico sobre a expressão de sistemas isoenzimáticos em sementes de café.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de café (*Coffea arabica* L.), variedade Catuaí, produzidas em lavoura em conversão para o sistema orgânico, localizada na cidade de Lavras, com uma área total de 3,2 ha sendo a área experimental da lavoura orgânica de 2,56 ha.

O delineamento estatístico utilizado foi um látice balanceado 4 x 4 (dezesseis tratamentos), em esquema fatorial 3x2x2 mais quatro tratamentos adicionais, além da testemunha, produzida com adubação convencional. O fatorial corresponde a três fontes de matéria orgânica (esterco bovino, cama de aviário e farelo de mamona), com e sem resíduo vegetal (casca de café), com e sem adubação verde com feijão guandu (*Cajanus cajan* L).

**Tabela 1** - Detalhamento dos tratamentos que caracterizam o manejo orgânico e convencional do cafeeiro.

Sem adubo verde		Com adubo verde	
<b>Com resíduo vegetal</b>	T1 - Esterco bovino	<b>Com resíduo vegetal</b>	T7 - Esterco bovino
	T2 - Cama de aviário		T8 - Cama de aviário
	T3 - Farelo de mamona		T9 - Farelo de mamona
<b>Sem resíduo vegetal</b>	T4 - Esterco bovino	<b>Sem resíduo vegetal</b>	T10 - Esterco bovino
	T5 - Cama de aviário		T11 - Cama de aviário
	T6 - Farelo de mamona		T12 - Farelo de mamona
<b>Tratamentos adicionais</b>			
T13 - Esterco bovino + casca de café			
T14 - Torta de mamona + Casca de café			
T15 - Casca de café fermentada			
T16 - Adubo verde			
T17 - Testemunha convencional			

Foram utilizadas cinco repetições dos tratamentos, perfazendo 80 parcelas sob manejo orgânico e 20 sob manejo convencional (testemunha), totalizando 100 parcelas por ano de avaliação. Após a colheita, os frutos foram submetidos ao despulpamento e, em seguida as sementes foram desmuciladas por fermentação em água por 24 horas, e foram lavadas em água corrente. Após esse processo, as sementes foram secadas em papel toalha para a retirada do excesso de água e secadas à sombra até atingirem o teor de água de 12%.

A qualidade das sementes de café foi avaliada pelos testes germinação, de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, porcentagem de plântulas com folhas cotiledonares. Foram retiradas amostras de 100 gramas de sementes dos tratamentos para a análise eletroforética de enzimas. As amostras foram trituradas em mortar sobre gelo na presença de PVP e nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenadas à temperatura de -86 °C, até a realização das análises eletroforéticas.

Para a extração das enzimas, foi utilizado o tampão Tris HCl 0,2M pH 8,0 + (0,1% de  $\beta$  mercaptoetanol), na proporção de 250  $\mu$ L por 100 mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido *overnight*, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 x g, por 30 minutos a 4 °C. As corridas eletroforéticas foram realizadas em sistema de géis de poliácridamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 50  $\mu$ L do sobrenadante da amostra nos géis e a corrida efetuada a 150V por 4 horas. Terminada a corrida, os géis foram revelados para as enzimas álcool desidrogenase, sorbitol desidrogenase, peroxidase, catalase, esterase, superóxido dismutase e glutamato desidrogenase, conforme Alfenas et al. (1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi constatado efeito dos tratamentos de manejo orgânico na qualidade fisiológica das sementes, avaliada por meio da porcentagem de germinação das sementes, de plântulas com folhas cotiledonares abertas aos 45 dias da

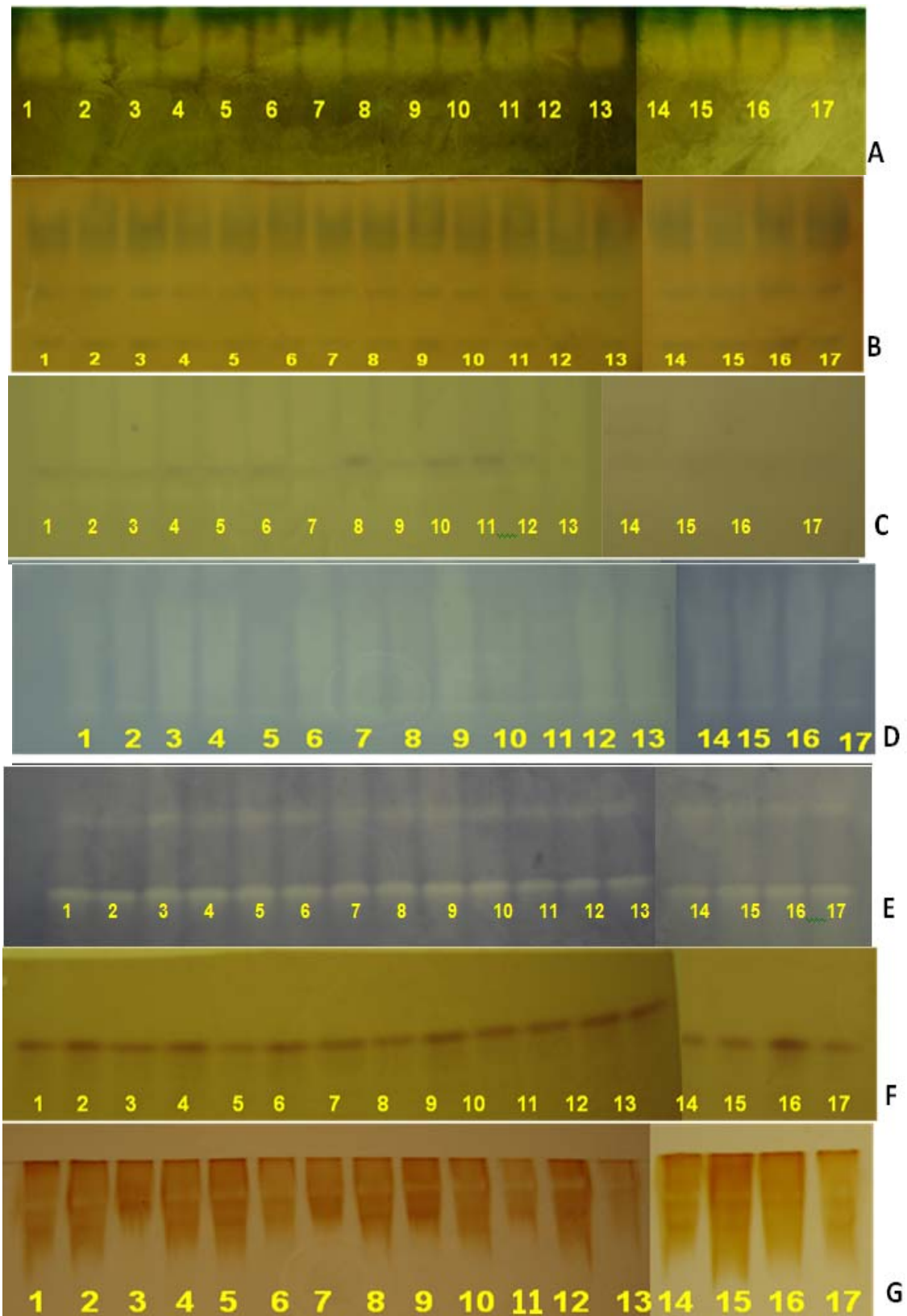
semeadura, de emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (Tabela 2). Lima et al. (2003) avaliando a influência de nutrientes aplicados no pré e pós-florescimento, na produção e na qualidade das sementes de café, também não verificaram efeito dos tratamentos de adubação testados na porcentagem de germinação das sementes, no índice de velocidade de germinação, no T50 e na condutividade elétrica. Ainda de acordo com os autores, os marcadores bioquímicos esterase e catalase também não detectaram diferenças entre os tratamentos.

**Tabela 2** - Valores médios (%) de germinação, de plântulas com folhas cotiledonares, de emergência de plântulas e IVE em sementes de café cultivar, Catuaí, produzidas em lavoura em conversão para o sistema orgânico.

Testes fisiológicos (%)				
Tratamento	Germinação	Plântulas com folhas cotiledonares	IVE	Emergência de plântulas
1	88,33aB	53,39aB	46,76aB	81,47aB
2	91,22aB	57,81aB	45,82aB	83,93aB
3	89,87aB	50,18aB	46,16aB	78,95aB
4	91,65aB	51,52aB	46,95aB	80,84aB
5	91,55aB	61,52aB	45,30aB	85,47aB
6	90,68aB	52,66aB	46,66aB	86,08aB
7	92,91aB	54,33aB	45,66aB	83,47aB
8	91,24aB	54,06aB	45,69aB	76,77aB
9	89,39aB	58,89aB	44,87aB	82,99aB
10	90,58aB	63,27aB	46,34aB	87,53aB
11	89,83aB	64,25aB	47,05aB	85,37aB
12	90,18aB	58,08aB	45,97aB	84,47aB
13	86,28aB	58,16aB	45,41aB	83,70aB
14	89,29aB	49,74aB	46,62aB	77,77aB
15	89,01aB	56,61aB	45,84aB	86,67aB
16	92,24aB	53,80aB	45,76aB	83,05aB
Testemunha	91,28B	51,4B	47,10B	80,46B

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem, estatisticamente, entre si, pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade. Médias seguidas de mesma letra maiúscula da testemunha não diferem desta, estatisticamente pelo teste t, a 5% de probabilidade.

De uma forma geral, os sistemas isoenzimáticos analisados por meio de marcadores moleculares (Figura 1) não evidenciaram expressões fenotípicas diferenciais entre os tratamentos de adubação orgânica testados e a testemunha convencional, corroborando os resultados obtidos pelos testes fisiológicos.



**Figura 1** - Padrões isoenzimáticos de sementes de café, cultivar Catuaí, produzidas em lavoura em conversão para o sistema orgânico, revelados para a enzima catalase (A), glutamato desidrogenase (B), álcool desidrogenase (C), sorbitol desidrogenase (D), superóxido dismutase (E), esterase (F) e peroxidase (G).

## CONCLUSÕES

Não foram observadas diferenças na qualidade fisiológica das sementes de café ou nos padrões isoenzimáticos, entre os tratamentos de manejo orgânico e convencional de adubação.

## AGRADECIMENTO

Ao CNPq, FAPEMIG e a EMBRAPA pelo apoio financeiro para realização da pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C.; BRUNE, W. Eletroforese em gel de poliacrilamida. In: **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. p. 151-182.
- CAIXETA, I. F. A produção de café orgânico: alternativa para o desenvolvimento sustentado - o exemplo do sul de Minas. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Café: produtividade, qualidade e sustentabilidade**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, 2000. p. 323-330.
- LIMA, D. M. et al. Efeito da adubação foliar no cafeeiro, em sua produção e na qualidade de suas sementes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. Edição Especial, p.1499-1505, dez., 2003.
- LIMA, P. C. et al. Estabelecimento de cafezal orgânico. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.23, n.214/215, p.33-52, 2002.