

33º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras

INDUÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS EM *Coffea*: MEIOS DE CULTURA E TEMPERATURA.

JC de Rezende, Doutoranda em Fitotecnia-UFLA juliana_ufla@yahoo.com.br, M. Pasqual. Prof. Adjunto do Departamento de Fitotecnia UFLA mpasqual@ufla.br CHS Carvalho Pesquisador Dr Embrapa Café carlos.carvalho@embrapa.br, AM.S Jesus. Eng. Agrônoma Dra. em Fitotecnia.

A introdução de métodos biotecnológicos para auxiliar os programas de melhoramento genético tem se mostrado bastante útil, principalmente em culturas perenes, como é o caso do cafeeiro. Um importante método de propagação *in vitro* de plantas de *Coffea arabica* é a embriogênese somática, que pode ser direta ou indireta, apresentando grande potencial a ser explorado. Os fatores que mais freqüentemente determinam o sucesso da propagação *in vitro* são a origem do explante e o meio nutritivo onde são cultivados. Nas condições de cultivo dos calos, a temperatura também pode influenciar a resposta embriogênica e a regeneração de plantas. Diante dos fatos, este trabalho objetivou validar uma metodologia de indução de calos embriogênicos de *Coffea* sp, por meio de diferentes temperaturas e meios de cultura.

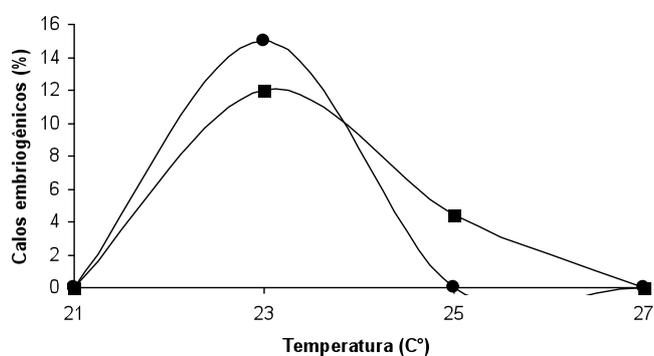
Folhas bem desenvolvidas correspondentes ao terceiro par do Híbrido 2.2 (Icatu 2942 x Catuaí 5002) de *Coffea*, do Programa de Melhoramento Genético do Cafeeiro conduzido pela UFLA/Epamig/UFV foram coletadas e conduzidas ao laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras, onde foi realizado o experimento. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com dez repetições, cinco explantes por repetição e esquema fatorial 4 x 4, constituído de quatro meios de cultura: Boxtel & Berthouly (Plant Cell Tissue and Organ Culture, vol.44, p. 169-176. 1996), Chen et al. (In vitro cell. Dev. Biol. v.36. p. 420-423. September-October. 2000), Teixeira et al (Documentos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004), Rezende (Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, UFLA 2005), e quatro temperaturas de armazenamento (21°C, 23°C, 25°C e 27°C).

As folhas foram colocadas em placas e acondicionadas em BODs (estufas de crescimento controladas), com temperatura controlada e na ausência de luz. Os explantes foliares inoculados nos meios Boxtel & Berthouly (1996) e Teixeira et al (2004) passaram por duas etapas, na primeira foram inoculados em meio PM ou meio C, respectivamente, e após o período de 30 dias, foram transferidos para o meio SM ou meio E, no qual permaneceram ainda por 150 dias nas mesmas condições relatadas. A avaliação do experimento foi efetivada 180 dias após a instalação, por meio da contagem de calos embriogênicos formados. Os dados foram transformados em raiz quadrada da variável + 0,5, dada a heterogeneidade das variâncias, sendo os dados submetidos a análise de variância por meio do teste F. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o “software” estatístico SAS® (SAS, 2001).

Houve efeito significativo da temperatura sobre a formação de calos embriogênicos e sobre a interação entre os fatores a 1% de probabilidade. O desdobramento da interação temperatura x meios de cultura, constatou que apenas os meios de cultura Boxtel & Berthouly (1996) e Chen et al. (2000) foram significativos nos níveis de temperaturas estudados a 1% de probabilidade, pelo teste F. Analisando-se as curvas de regressão, observa-se na Figura 1, que houve maior porcentagem de formação de calos embriogênicos, quando utilizado o meio de indução de calos Boxtel & Berthouly (1996) acondicionado

provocaram uma redução na formação de calos embriogênicos. Esta mesma tendência de comportamento é observada quando utilizado o meio nutritivo Chen et al. (2000), com formação de 12% de calos embriogênicos à temperatura de 23°C.

Um terceiro tipo de crescimento a partir do calo primário é o calo embriogênico de baixa frequência. Neste tipo de calo, observa-se a formação de um tecido regenerativo, que evolui diretamente para a formação de embriões somáticos geralmente de baixa frequência. Este comportamento foi observado nos tratamentos Rezende (2005) e Chen et al. (2000) acondicionados à temperatura de 23°C. Apesar da frequência de embriões somáticos formados neste processo ter sido bastante baixa, houve um desenvolvimento rápido dos embriões formados. Nestes tratamentos, aos 180 dias após o estabelecimento do experimento, muitos embriões já haviam desenvolvido radícula e folhas cotiledonares, apesar da heterogeneidade no desenvolvimento destes embriões. Vale ressaltar que estes dois tratamentos não passaram pela mudança de meios sucessivos de condicionamento e de indução, metodologia sugerida por Sondhal & Sharp (Zeitschrift fuer pflanzen physiologie, v.81, 1977).



• Boxtel & Berthouly (1996) $y = -13.25082 + 1.19228X - 0.02505X^2 - R^2 = 70.39\%$

■ Chen et al. (2000) $y = 12.89782 - 0.97231X + 0.01931X^2 - R^2 = 92.48\%$

Teixeira et al (2004) e Rezende (2005) NS

Figura 1 Porcentagem de calos embriogênicos formados em explantes foliares do Híbrido 2.2 em diferentes meios de cultura e acondicionados sob diferentes temperaturas.