

REGENERAÇÃO DE EMBRIÕES SOMÁTICOS DE CAFEIEIRO EM MEIO DE CULTURA LÍQUIDO

Danielle Silva Souza¹, Carlos Henrique Siqueira de Carvalho²; Ana Carolina SR Paiva¹, Paloma Bequima Borato³, Gabriella Alves Marçal³, Bruna Nascimento Marques⁴, Iran Bueno Ferreira³. Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café e pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – INCT-Café.¹Pesquisador, Embrapa Café/Fundação Procafé, Varginha-MG, carlos.carvalho@embrapa.br. ²Pesquisadoras, Fundação Procafé, Varginha-MG, carolramia@hotmail.com; daniellevga@hotmail.com. ³Bolsistas do Consórcio Pesquisa Café, pyloma@hotmail.com, gabialves_vga@hotmail.com, ibferreira10@yahoo.com.br. ⁴Bolsista do INCT-Café, marquesbiomedicina@outlook.com

No processo de produção de mudas clonais do cafeeiro por embriogênese somática, os meios de cultura usuais para a conversão de calos embriogênicos em embriões (regeneração) são semissólidos, de consistência gelatinosa. O meio semissólido apresenta como grande vantagem a alta repetibilidade do processo, mas o número de embriões globulares formados por grama de calo é baixo. Uma alternativa para a produção de embriões globulares é a regeneração em meio líquido, todavia, apesar de ser possível a obtenção de um número bem maior de embriões que em meio semissólido, o processo é considerado errático, de baixa repetibilidade. Este trabalho foi elaborado com o objetivo de avaliar o potencial de regeneração de embriões em meio líquido, usando alterações na composição do meio R (Etienne, 2005). A composição de um litro do meio R é a seguinte: 2,15 de sais MS, 0,4g caseína; 0,4g malte; vitaminas MS, 0,04g sulfato de adenina; 4mg BAP, 30g sacarose. O experimento foi instalado em blocos inteiramente casualizados, com cinco tratamentos (Tabela 1) e três repetições formadas por erlenmeyers de 250mL, contendo 50mg de calos embriogênicos em 50ml de meio. Os calos foram cultivados por 60 dias e mantidos no escuro, a 26°C e agitação de 105 rpm. A cada 15 dias eram realizados subcultivos e divisões de cada erlenmeyer, onde metade dos calos de um erlenmeyer era transferida para outro com a mesma quantidade de meio de cultura (50mL). Devido às divisões os 15 erlenmeyers que iniciaram o experimento se tornaram 120 ao final. Após 60 dias foi contado o número de embriões por grama de calo embriogênico inoculado e quantificada a massa fresca dos embriões mediante a avaliação de uma amostra de 10% a 15% da massa total, de seis repetições de cada tratamento.

Resultados

O meio R com a adição de 0,25mg/L de ANA e o meio R com 0,08 mg/L de sulfato de adenina produziram cerca de 250 embriões por miligrama de calo inoculado, um número significativamente maior que os tratamentos A, B e E, com aproximadamente 150 embriões/mg de calo cada. Esses resultados evidenciam que a regeneração em meio líquido é muito mais eficiente que em meio gelificado. O meio C também produziu embriões significativamente maiores que os outros meios. Ensaios para avaliar a taxa de conversão de embrião globular para cotiledonar e a repetibilidade destes tratamentos estão em andamento para confirmar os resultados obtidos.

Tabela 1. Produção de embriões globulares em meios de regeneração líquida.

Tratamento	Nº embriões/g calo	Massa/embrião(mg)
A) Meio R (Etienne, 2005)	176.980 b	0,57 c
B) Meio R com 1,07g/L de sais MS	150.500 b	0,86 b
C) Meio R + 0,25 mg/L ANA	271.520 a	0,92 a
D) Meio R com 0,08 mg/L sulfato de adenina	255.040 a	0,69 c
E) Meio R com 2mg/L de BAP	174.080 b	0,54 c