

PRODUÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS EM GENÓTIPOS ELITE DE CAFÉ ARÁBICA

Ana Carolina R. Santos¹; Paola Lidiene Oliveira¹; João Batista Teixeira²; Lilian Padilha³; Carlos Henrique S. Carvalho³, E-mail: carlos.carvalho@embrapa.br

¹Fundação Procafé. ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. ³Embrapa Café.

Resumo:

A propagação vegetativa do cafeeiro via embriogênese somática permite a multiplicação de híbridos e de genótipos segregantes e, aplicada ao melhoramento genético, possibilita reduzir de 30 para cerca de 10 anos, o tempo necessário para o lançamento de novas cultivares. Todavia, esta metodologia de propagação ainda necessita ser otimizada para que seja possível a multiplicação de café arábica em larga escala. Este trabalho objetivou avaliar o potencial de produção de calos embriogênicos friáveis a partir de explantes foliares de 10 plantas matrizes de café arábica com resistência à ferrugem e ao bicho-mineiro e de estudar o efeito da adição de prolina (0, 200, 400, 800 e 1600 mg.L⁻¹) na indução de calos embriogênicos. Foi também testado o efeito de 9,84 µM de BAP ou de 2iP na indução de calos embriogênicos. A porcentagem de calos embriogênicos friáveis formados nos explantes foliares variou de 0 a 64,4%, sendo função da época de plaqueamento e da planta matriz utilizada. Verificou-se também que a adição de prolina ao meio de indução diminuiu a formação de calos, e que a utilização de 2iP foi mais eficiente que a de BAP para formação de calos embriogênicos friáveis.

Palavras-chave: embriogênese somática, calos friáveis, propagação vegetativa, micropropagação.

EMBRYOGENIC CALLUS PRODUCTION IN ELITE GENOTYPES OF ARABICA COFFEE

Abstract:

Vegetative propagation of coffee through somatic embryogenesis allows the multiplication of hybrids and segregating genotypes. This technique applied to a coffee breeding program reduces the time required for the release of new cultivars from 30 to around 10 years. However, the methodology still needs to be optimized for large scale production. An experiment was conducted to evaluate the potential of friable embryogenic callus production from leaf explants of 10 mother plants of arabica coffee that are leaf miner and leaf rust resistant and to study the effect of proline (0, 200, 400, 800 and 1600 mg.l⁻¹) on embryogenic callus induction. The effect of 9.84 µM of either BAP or 2iP was also tested. The percentage of embryogenic callus formed in leaf explants ranged from 0.0 to 64.4%, depending on the mother plant and timing of plating. It was also observed that proline supplementation decreased callus formation and that the use of 2iP was more efficient than BAP for friable embryogenic callus production.

Key words: somatic embryogenesis, friable callus, coffee, vegetative propagation, micropropagation.

Introdução

A micropropagação do cafeeiro via embriogênese somática permite a multiplicação em larga escala de híbridos e de genótipos superiores que ainda estão segregando para características de interesse. Esta técnica aplicada ao melhoramento genético de café arábica possibilita reduzir de 30 para cerca de 10 anos o tempo necessário para o lançamento de novas cultivares de café. A primeira etapa para a micropropagação em larga escala é a otimização dos meios de indução de calos embriogênicos.

Este trabalho avaliou o potencial de produção de calos embriogênicos friáveis a partir de explantes foliares de plantas matrizes de café arábica com resistência à ferrugem e ao bicho-mineiro. Estudou-se também o efeito da adição de prolina e a eficiência de BAP e de 2iP na indução de calos embriogênicos.

Material e Métodos

Utilizou-se o protocolo descrito por Teixeira et al. (2004), no qual são usados dois meios de cultura para a indução de calos embriogênicos. Inicialmente explantes foliares de aproximadamente 1cm² são plaqueados com a face adaxial em contato com um meio de cultura, denominado de PM, e cultivados durante um mês. O meio PM é formado por sais MS/2, vitaminas MS, caseína hidrolisada (100 mg.L⁻¹), extrato de malte (400 mg.L⁻¹), 2,4-D (20 µM), IBA (9,84 µM), 2iP (9,84 µM), sacarose (20 g.L⁻¹) e Phytigel (2,4 g.L⁻¹). Após um mês em meio PM os explantes foram transferidos para meio SM, no qual a concentração de 2,4-D é reduzida para 10 µM. Durante os primeiros meses do ensaio de avaliação do potencial de

produção de calos embriogênicos de diversas plantas matrizes, no período de setembro a dezembro de 2005, em função da disponibilidade de reagentes, foram utilizados 9,84 μM de BAP no lugar de 2iP. A partir de janeiro de 2006 o BAP foi substituído por 2iP. Em um segundo ensaio foi testada a suplementação com prolina nas doses de 0, 200, 400, 800 e 1600 mg.L^{-1} nos meios PM e SM. A percentagem de explantes com calos embriogênicos foi avaliada sete meses após o plaqueamento dos explantes.

Resultados e Discussão

No primeiro ensaio verificou-se formação de calos primários em todos os explantes das plantas matrizes testadas (Tabela 1). A adição de 2iP aumentou significativamente a percentagem de explantes que formaram calos embriogênicos (média de 22,5%) que a de BAP (0,8%). A percentagem de explantes com calos de embriogênicos também variou em função da época de plaqueamento. Por exemplo, a planta matriz 14 apresentou 26,6% de calos embriogênicos por explante plaqueado em janeiro de 2006 e 10,4% quando o plaqueamento foi feito em março. Na planta matriz 23, observou-se que uma diferença de apenas três dias entre as coletas de folhas resultou em uma redução de 64,4% para 9,2% na percentagem de calos formados. Considerando que as plantas matrizes eram mantidas em condições de campo, é possível que além da época de coleta das folhas, o estado fisiológico da planta matriz no momento da coleta também tenha influenciado na produção de calos embriogênicos. A percentagem média de calos embriogênicos obtidos (22,6%) é considerada satisfatória, pois permite a um único operador produzir grande quantidade de calos embriogênicos necessários a micropropagação.

A adição de prolina aos meios PM e SM diminuiu a formação de calos primários e de calos embriogênicos (Tabela 2).

Tabela 1. Formação de calos embriogênicos em explantes foliares de clones de café com resistência à ferrugem e ao bicho-mineiro.

Clone	Meio usado	Data de plaqueamento	Nº de explantes de plaqueados	de Explantes com calos primários (%)	Explantes com calos embriogênicos (%)
7--40	PM e SM c/ BAP	.18/09/2005	245	100%	1,6%
15	PM e SM c/ BAP	.01/11/2005	347	100%	0,0%
16	PM e SM c/ BAP	.20/10/2005	74	100%	2,7%
18	PM e SM c/ BAP	.01/11/2005	114	100%	0,0%
20	PM e SM c/ BAP	.14/11/2005	85	100%	3,5%
21	PM e SM c/ BAP	.16/11/2005	26	100%	0,0%
21	PM e SM c/ BAP	.01/12/2005	28	100%	0,0%
21	PM e SM c/ BAP	.14/12/2005	9	100%	0,0%
22	PM e SM c/ BAP	.05/12/2005	87	100%	0,0%
22	PM e SM c/ BAP	.07/12/2005	61	100%	0,0%
22	PM e SM c/ BAP	.14/12/2005	246	100%	0,8%
Média				100%	0,8%
14	PM e SM c/ 2ip	.27/01/2006	30	100%	26,6%
14	PM e SM c/ 2ip	.08/03/2006	86	100%	10,4%
17	PM e SM c/ 2ip	.10/01/2006	134	100%	24,6%
20	PM e SM c/ 2ip	.25/04/2006	20	100%	0,0%
22	PM e SM c/ 2ip	.11/01/2006	134	100%	12,4%
23	PM e SM c/ 2ip	.27/01/2006	59	100%	64,4%
23	PM e SM c/ 2ip	.30/01/2006	163	100%	9,2%
Média				100%	22,5%

Tabela 2. Efeito da adição de prolina sobre a formação de calos embriogênicos em explantes foliares de café.

Clone 23			Clone 14		
Dose de prolina (mg)	Explante com calo primário (%)	Explante com calo embriogênico (%)	Dose de prolina (mg)	Explante com calo primário (%)	Explante com calo embriogênico (%)
0	100%	65%	0	100%	17%
200	14%	16%	200	44%	3%
400	25%	0%	400	83%	0%
800	3%	0%	800	20%	0%
1600	0%	0%	1600	23%	0%

Conclusões

- A produção de calos embriogênicos é afetada pela época de coleta dos explantes e é genótipo-dependente.
- A adição de prolina aos meios de indução diminui a formação de calos embriogênicos.
- A adição de 2ip ao meio de indução de calos é mais eficiente que a de BAP para formação de calos embriogênicos friáveis.

Referências Bibliográficas

Teixeira, J.B., Junqueira, C.S., Pereira, A.J.P.C., Mello, R.I.S., Silva, A.P.D., Mundim, D.A.(2004). Multiplicação clonal de café (*Coffea arabica* L.) via embriogênese somática. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 40 p. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 0102-0110; 121).