

## **PRODUÇÃO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS EM EXPLANTES FOLIARES DE PLANTAS MATRIZES DE CAFÉ ARÁBICA COM RESISTÊNCIA À FERRUGEM E AO BICHO-MINEIRO.**

ANA CAROLINA R. SANTOS, PAOLA LIDIENE OLIVEIRA, FUNDAÇÃO PROCAFÉ; JOÃO BATISTA TEIXEIRA, CENARGEN; CARLOS HENRIQUE S. CARVALHO., EMBRAPA CAFÉ ( [CARLOS.CARVALHO@EMBRAPA.BR](mailto:CARLOS.CARVALHO@EMBRAPA.BR) )

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 o tempo para lançamento de novas cultivares de café de, aproximadamente, 30 anos, para cerca de 10 anos. 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 PAB e de 2iP na indução de calos embriogênicos.

Utilizou-se o protocolo descrito por Teixeira et al. (2005), no qual são usados dois meios de cultura para a indução de calos embriogênicos. Inicialmente explantes foliares de aproximadamente 1cm<sup>2</sup> 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<sup>-1</sup>), extrato de malte (400 mg.L<sup>-1</sup>), 2,4-D (20 µM), IBA (9,84 µM), 2iP (9,84 µM), sacarose (20 g.L<sup>-1</sup>) e Phytigel (2,4 g.L<sup>-1</sup>). 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 PAB 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<sup>-1</sup> nos meios PM e SM. A percentagem de explantes com calos embriogênicos foi avaliada sete meses após o plaqueamento dos explantes.

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).

CLONE	MEIO USADO	DATA DE PLAQUEAMENTO	Nº DE EXPLANTES PLAQUEADOS	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%
<b>MÉDIA</b>				<b>100%</b>	<b>0,8%</b>
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%
<b>MÉDIA</b>				<b>100%</b>	<b>22,5%</b>

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 adição de 2ip nos meios de indução de calos é mais eficiente que a de BAP para formação de calos embriogênicos friáveis.

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 de calos diminui a formação de calos embriogênicos.