

# INDUÇÃO DE CALOS DE EXPLANTES FOLIARES DE GENÓTIPOS DE CAFÉ<sup>1</sup>

Julieta Andrea Silva **ALMEIDA**; Karen Cristina Marques **SIMIONI**; Luiz Carlos **FAZUOLI**;  
Luiz Carlos da Silva **RAMOS** (lcramos@cec.iac.br)

**Centro de Genética, Instituto Agrônomo de Campinas, CP 28, CEP 13001-970, Campinas, São Paulo.**

**RESUMO:** Estudou-se a capacidade de indução de calos de explantes foliares de oito plantas de café altamente heterozigotas, originárias de uma planta Arabusta e ascendentes à variedade Icatu. Os explantes foram obtidos de folhas coletadas mensalmente, desde de 18/01/1999. Nas primeiras sete coletas verificou-se a ocorrência de baixa porcentagem de formação de calos nos explantes, sendo que os formados tiveram diâmetro de 0,5 a 3 mm, tornaram-se altamente oxidados e escuros após cerca de trinta dias de seu aparecimento. No entanto, a partir da oitava coleta, verificou-se tanto aumento da porcentagem de explantes com calos quanto uma elevação do diâmetro dos mesmos. Assim, suspeitou-se que essa alteração de resposta pudesse estar associada ao estágio fisiológico das plantas quando da coleta das folhas, já que a planta de cafeeiro passa por diferentes estádios fenológicos ao longo do ano. A partir da oitava coleta, verificou-se também que esses explantes formaram calos maiores quando mantidos no escuro, até 37 mm, aproximadamente.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Coffea*, indução de calos, explante foliar

**ABSTRACT:** Callus induction was studied from eight highly heterozygotic *Coffea arabica* mother plants derived from Arabusta, including the Catuaí variety as check. Explants were extracted from monthly collected leaves of field grown plants. A low percentage of explants with callus was observed in the first seven collects. The size of the callus was reduced, around 3 mm of diameter; which became oxidized. From the eighth collect ahead the explants showed high percentage of callus formation and with larger size (over 30 mm). It was observed also a higher percentage of calluses induced in dark as compared to light.

## INTRODUÇÃO

O melhoramento do cafeeiro através de métodos convencionais é um processo de vários anos envolvendo diferentes métodos, principalmente a hibridização, seguida de seleção de populações, avaliações de progênies, retrocruzamentos e cruzamentos interespecíficos. Assim, pode-se levar mais de trinta anos para se obter um novo cultivar a partir desses métodos.

Algumas plantas de cafeeiro são altamente heterozigóticas como as do tipo Robusta e alguns híbridos de Arábica. A clonagem representa uma alternativa vantajosa tanto do ponto de vista de pesquisa quanto do comercial. A propagação vegetativa “in vitro”, também denominada de micropropagação, é uma técnica utilizada no melhoramento genético de plantas. A embriogênese somática do cafeeiro é um sistema de micropropagação, podendo ser por via indireta, onde embriões são formados a partir de calos, ou por via direta, sem passar pela fase de calo (Dublin, 1982; Ramos et al, 1993). Sondahl e Sharp (1977) estabeleceram as condições para a formação de embriões somáticos de calo foliar usando meio com diferentes combinações de auxinas e citocininas. Neste trabalho, estudaram-se algumas plantas selecionadas de cafeeiros, que possuem alta heterozigose, do ponto de vista de produção de calos; objetivando cloná-las mais tarde e assim verificar seu potencial agrônomo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Explantes de 2 cm<sup>2</sup>, aproximadamente, foram extraídos das folhas de plantas de oito genótipos de cafeeiros (H-4782-10-225, H-4782-7-724, H-4782-7-625, H-4782-7-785, H-4782-7-585, H-4782-7-788, H-3717-5 e H-3717-9), em 11 coletas mensais, desde 18/01/1999. Estas plantas acham-se localizadas em área de campo, do Instituto Agrônomo de Campinas. Em seguida à coleta, as folhas foram desinfestadas em laboratório (Ramos et al., 1993) e extraídos os explantes foliares, excluindo-se a nervura principal, as margens e as porções apical e basal das folhas. Esses explantes foram inicialmente submetidos a pré-cultura, que consistiu na triagem dos explantes sadios. Após a pré-cultura, os explantes descontaminados foram transferidos, individualmente, para frascos com meio de indução de calo (Sondahl et al., 1983), contendo 2,4-D (2,5 µM/l)

<sup>1</sup> Com suporte do **Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café**

e cinetina (5 µM/l). Foram usadas até 35 repetições por genótipo, sendo inoculado um explante cada, os quais foram mantidos individualmente em frascos numa sala fotoperiódica, com 15 horas de luz fluorescente ou no escuro, à temperatura de 25 °C. Os explantes foram avaliados quanto a iniciação e desenvolvimento de calos, sendo estimado o diâmetro dos calos, com auxílio de régua.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Notou-se uma baixa porcentagem de formação de calos nos explantes da primeira a sétima coleta, em torno de 30 % (Tabela 1). Os calos formados por esses explantes também tiveram crescimento reduzido já que atingiram diâmetro de 0,5 até 3 mm e tornaram-se completamente oxidados após trinta dias de seu aparecimento (dados não apresentados). Explantes do genótipo Catuaí também foram utilizados como controle e atingiram elevada porcentagem de formação de calos, no mesmo meio de indução de calos utilizado com os oito genótipos, indicando que o meio não foi o principal fator limitante da formação e desenvolvimento dos calos desses genótipos. No entanto, a partir da oitava coleta, a porcentagem de explantes com calos passou a aumentar, atingindo valores superiores ao dobro do encontrado anteriormente (Tabela 1), assim como o diâmetro de seus calos também tenderam a aumentar (dados não apresentados). Estas observações levaram a hipótese de que a indução de calos e o seu posterior desenvolvimento pudesse estar associada às condições fisiológicas dos explantes desses oito genótipos, quando da coleta de suas folhas de cada planta. Assim, o estágio fenológico, eventualmente, influenciaria os explantes quanto a sua capacidade de indução e desenvolvimento dos calos. Também seria possível que a característica de comportamento bianual de produção do cafeeiro também viesse influenciar a calogênese. Quando associaram-se os resultados aos dados climatológicos de cada época de coleta, observaram-se correlações não significativas. Conclusões mais precisas sobre estas associações poderão ser feitas após a comparação desses resultados com os de um segundo ano de coleta, como vem sendo realizado.

| Genótipos  | Coletas mensais |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|------------|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|            | 1a              | 2a     | 3a     | 4a     | 5a     | 6a     | 7a     | 8a     | 9a     | 10a    | 11a    |
|            | Jan/99          | Fev/99 | Mar/99 | Abr/99 | Mai/99 | Jun/99 | Ago/99 | Set/99 | Out/99 | Nov/99 | Jan/00 |
| 557        | 0,0             | 0,0    | 10,0   | 0,0    | 0,0    | 0,0    | 0,0    | 0,0    | 0,0    | 0,0    | 72,7   |
| 1056       | 3,3             | 17,0   | 10,0   | 8,8    | 13,0   | 45,0   | 40,0   | 40,0   | 100,0  | 70,0   | 80,0   |
| 1297       | 0,0             | 8,6    | 47,0   | 69,0   | 43,0   | 15,0   | 87,0   | 41,7   | 20,0   | 80,0   | 100,0  |
| 1300       | 0,0             | 11,0   | 6,7    | 14,0   | 6,7    | 45,0   | 13,0   | 0,0    | 100,0  | 100,0  | 88,9   |
| 1400       | 3,3             | 2,9    | 6,7    | 8,6    | 17,0   | 0,0    | 0,0    | 50,0   | 80,0   | 40,0   | 100,0  |
| 1977       | 0,0             | 63,0   | 13,0   | 20,0   | 19,0   | 0,0    | 0,0    | 25,0   | 100,0  | 100,0  | 62,5   |
| 662        | 6,7             | 63,0   | 17,0   | 56,0   | 67,0   | 10,0   | 13,0   | 75,0   | 0,0    | 90,0   | 100,0  |
| 1076       | 0,0             | 3,7    | 43,0   | 2,8    | 3,3    | 70,0   | 100,0  | 41,7   | 80,0   | 90,0   | 100,0  |
| Catuaí     |                 |        |        |        |        | 95,0   | 100,0  | 85,0   | 100,0  | 100,0  | 100,0  |
| Média      | 1,7             | 21,2   | 19,2   | 22,4   | 21,1   | 23,1   | 31,6   | 34,2   | 60,0   | 71,3   | 88,0   |
| Tmax.      | 29,8            | 29,6   | 29,8   | 29,3   | 23,9   | 24,0   | 27,1   | 26,8   | 27,5   | 29,5   | 28,5   |
| Tmim.      | 19,9            | 19,7   | 19,4   | 18,9   | 12,9   | 11,6   | 12,0   | 14,3   | 15,6   | 17,1   | 19,3   |
| Tmédia     | 24,9            | 24,7   | 24,7   | 24,1   | 18,4   | 17,8   | 19,6   | 20,5   | 21,6   | 23,3   | 23,4   |
| Chuva (mm) | 231,4           | 146,6  | 15,3   | 0,0    | 1,0    | 36,7   | 0,0    | 0,0    | 17,1   | 30,7   | 59,6   |
| UR (%)     | 81,4            | 83,4   | 73,5   | 68,4   | 65,9   | 69,5   | 54,8   | 53,8   | 65,3   | 60,4   | 76,3   |

Dados climatológicos: médias de 10 dias anteriores à coleta de folhas dos oito genótipos de cafeeiros no campo. Fonte: Climatologia Agrícola do IAC. Lat.: 22G 54' S; Long. 47G 05' W; Alt.: 674m

Tabela 1 - Porcentagem de explantes que formaram calos, provenientes de folhas coletadas, mensalmente, de genótipos de *Coffea*, em presença de meio de indução de calos, aos 90 dias após o início do experimento, mantidos na luz, à temperatura de 25° C.

Além da hipótese do estágio fenológico da planta, verificou-se que os explantes formaram calos com maior diâmetro quando mantidos no escuro em relação aqueles na luz (Tabela 2). Os diâmetros de calos da 11<sup>a</sup> coleta atingiram 26 mm, em média, após cerca de 120 dias do início do experimento, quando mantidos no escuro, enquanto aqueles na luz permaneceram pequenos e oxidados, com cerca de 3 mm. Observou-se, ainda, que o crescimento dos calos no escuro não foi uniforme, apresentando diferenças entre os genótipos. Os calos obtidos dos explantes foram transferidos para meio de diferenciação quando atingiram cerca de 30 mm de diâmetro e mantidos tanto na luz quanto no escuro, quando se observará a diferenciação.

| Genótipos | 20 dias |        | 40 dias |        | 80 dias |        | 120 dias |        |
|-----------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|----------|--------|
|           | Luz     | Escuro | Luz     | Escuro | Luz     | Escuro | Luz      | Escuro |
|           | mm      |        |         |        |         |        |          |        |
|           | 0,5     | 2,0    | 1,1     | 3,5    | 1,3     | 7,8    | 1,7      | -      |
|           | 0,3     | 0,7    | 0,7     | 2,6    | 1,1     | 6,7    | 1,2      | 14,8   |
| 1297      | 0,6     | 1,8    | 1,6     | 3,5    | 2,0     | 8,9    | 2,3      | 18,6   |
| 1076      | 1,1     | 2,1    | 1,8     | 2,8    | 2,6     | 6,9    | 2,7      | 12,4   |
| 662       | 0,6     | 2,4    | 1,7     | 3,6    | 2,3     | 8,8    | 3,0      | 16,7   |
| 1977      | 0,3     | 1,6    | 0,6     | 2,9    | 0,5     | 8,2    | 0,6      | 17,5   |
| 1300      | 0,8     | 2,0    | 2,0     | 3,8    | 2,8     | 11,9   | 2,7      | 26,3   |
| 1056      | 0,7     | 2,4    | 1,9     | 3,8    | 3,3     | 8,3    | 3,5      | 14,3   |
| Catuai    | 0,8     | 1,9    | 2,1     | 3,0    | 5,0     | 7,2    | 9,2      | 13,7   |
| Média     | 0,6     | 1,9    | 1,4     | 3,3    | 2,0     | 8,4    | 2,2      | 17,2   |

Tabela 2 – Estimativa do diâmetro (mm) de calos formados por explantes nos oito genótipos de *Coffea arabica*, cultivados *in vitro*, da 11ª coleta, mantidos luz e no escuro, à temperatura de 25° C.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dublin, P. 1982. Culture de tissue et amélioration genétique des caféiers cultivés. **Assoc. Scient. Int. Café.** 10<sup>o</sup> Coloque. Salvador 433-459.
- Ramos, L.C.S.; Yokoo, E.Y.; Gonçalves, W. 1993. Direct embryogenesis is genotype specific in coffee. XV International Congress of “Assoc. Scientifique Internationale du Café”. Montpellier, France. **ASIC** 15(2):763-766.
- Sondahl, M.R.; Sharp, W.R. 1977. Growth and embryogenesis in leaf tissues of *Coffea*. **Plant Physiol.** 69 (6):1.

## **AVISO**

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS  
SEGUINTE ENDEREÇOS:

### **FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES**

Edifício Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV  
Viçosa - MG  
Cep: 36571-000  
Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485  
Fax : (31) 3891-3911

### **EMBRAPA CAFÉ**

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)  
Edifício Sede da Embrapa - sala 321  
Brasília - DF  
Cep: 70770-901  
Tel: (61) 448-4378  
Fax: (61) 448-4425