

mg L⁻¹ de IAA e 0,45 mg L⁻¹ de BAP). A partir de 45 dias após a inoculação dos dicásios em meios de cultura, observou-se a formação de embriões somáticos e estes germinaram 30 dias depois de transferidos para meio de regeneração. O melhor meio para indução de embriogênese foi aquele suplementado com glutamina. Uma vez que a micropropagação de variedades do subgrupo Terra apresenta baixo rendimento, o aprimoramento do sistema de embriogênese somática pode ser também uma alternativa para produção de plantas em larga escala.

1360

Indução de calogênese *in vitro* a partir de tecido adulto de lima ácida Thaiti (*Citrus latifolia* Tanaka)

Elma dos Santos Souza¹; Fabíola S. Rebouças¹; Candice F. de B. Damasceno¹; Marcio Gil de A. Nascimento¹; Rosely P. da Silva²; Weliton A. Bastos de Almeida¹; Maria Angélica P. de C. Costa

¹Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS), R. Padre José Poggel, 506, Centenário. ²Universidade Federal de Lavras (UFLA). 37200-000, Lavras, MG. * Apoio FAPEMIG. E-mail: acaastro@unilavras.edu.br

A resposta morfogênica em explantes oriundos de tecido adulto tem sido muito rara, em virtude dos elevados índices de contaminação, bem como pela baixa totipotência apresentada por estas células. Assim, o objetivo deste trabalho foi induzir a calogênese em tecidos adulto de lima ácida 'Thaiti', visando estabelecer futuros sistemas de regeneração *in vitro* via embriogênese somática e/ou organogênese. Foram utilizados segmentos internodais como explantes, coletados de plantas adultas, desinfestados em solução de hipoclorito de sódio e água (3:1). Os explantes foram introduzidos em placas de petri contendo o meio de cultura DBA₃, suplementado com 25 g L⁻¹ de sacarose, 0,8% de Agar, 500 mg L⁻¹ do antibiótico Ceftriaxona sódica, BAP nas concentrações de 0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ou 5,0 mg.L⁻¹ combinado com 0,5 mg L⁻¹ de ANA. O material vegetal foi mantido em sala de crescimento em ausência de luz durante 60 dias, após o que permaneceram em condições de fotoperíodo de 16 h e intensidade luminosa de 40 μmol m⁻² s⁻¹. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada uma constituída de uma placa contendo 10 segmentos internodais. Foram avaliados: percentual de explantes responsivos para calos e o percentual da quantidade de células calogênicas por calos. Para este último parâmetro foram atribuídas notas: a) nota 0, para ausência de calos; b) nota 1, para calos com quantidade celular inferior a 1/3 do comprimento do explante; c) nota 2, para calos com quantidade celular superior a 1/3 e menor que 2/3 do comprimento do explante; d) nota 3, para calos com quantidade celular superior a 2/3 do comprimento do explante. Os resultados permitiram concluir que as concentrações 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP foram aquelas que induziram os maiores percentuais de calos com notas 2 e 3, embora tenham apresentado 67% e 64%, respectivamente, de explantes responsivos para calos.

1361

Embriogênese somática de linhagens tropicais de milho (*Zea mays*) em diferentes concentrações de 2,4-D

Gracielle T. C. P. Coelho¹; Rodrigo K. S. Rezende¹; Paula P. Torga¹; Caroline P. Petrillo²; Andréa A. Carneiro²; Newton P. Carneiro²; Renzo G. V. Pinho¹; Renato Paiva¹; Luciano V. Paiva¹

¹Universidade Federal de Lavras, CP 3037, CEP37200-000, Lavras, MG, Brasil; ²Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, CEP35701-970, Sete Lagoas, MG, Brasil. E-mail: luciano@ufla.br

Milho (*Zea mays*) é um dos cereais mais produzidos no mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtores, produzindo cerca de 31.089 mil toneladas do grão (IBGE 2004). Esta produção pode aumentar com a incorporação de técnicas de engenharia genética aos programas de melhoramento, no entanto o sucesso na produção de cultivares de milho transgênico depende diretamente de sua regeneração por cultura de tecidos. Para tal utiliza-se comumente embriogênese com formação de calos Tipo I e II em cereais. Calos friáveis Tipo II são preferidos em transformação genética, por apresentarem uma alta taxa de crescimento e regeneração. Porém,

a formação destes calos é observada em um número limitado de genótipos tropicais. A composição do meio é um dos fatores-chaves que afeta a morfogênese das células *in vitro*, influenciando diretamente no tipo de calo a ser formado bem como sua posterior regeneração. Objetivando a seleção de plantas de milho capazes de produzir calos embriogênicos friáveis, as linhagens tropicais 12A e L32 (Geneseeds), bem como L3, L11, L36 e L53 (EMBRAPA Milho e Sorgo) foram testadas. Embriões imaturos entre 1,5 a 2,0 mm foram subcultivados em meio CI (N6 sais e N6 vitaminas, 100 mg L⁻¹ mioinositol, 2,87 g L⁻¹ prolina, 100 mg L⁻¹ caseína hidrolizada, 30 g L⁻¹ sacarose, 2,5 g L⁻¹ phytigel, 1,7 mg L⁻¹ nitrato de prata) suplementado com 1, 2 ou 4 mg L⁻¹ de 2,4-D. Todas as linhagens testadas foram capazes de formar calos do Tipo I em maior quantidade do que Tipo II. L36, em meio CI + 4 mg L⁻¹ de 2,4-D se destacou na produção de calos Tipo I. As melhores produtoras de calos Tipo II foram L3, 12A, L32 e L53. Enquanto que 12A e L32 em maiores concentrações de 2,4-D apresentaram maior formação de calos Tipo II, em L3 e L53, independente da concentração de 2,4-D utilizado, calos Tipo II foram formados em aproximadamente 20% dos explantes. Portanto, as linhagens tropicais L3, 12A, L32 e L53 apresentam potencial para serem utilizadas em programas de produção de milho transgênico.

1362

Regeneração de *Brachiaria brizantha* (A. Rich) Stapf cv. Marandú via embriogênese somática de sementes e segmentos basais

Cabral, G. B.¹; Santana, C. G.²; Dusi, D. M. A.¹; Carneiro, V.T.C.¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-C P 02372- CEP 70770-900- Brasília- DF- Brasil; ²Faculdade da Terra de Brasília. Apoio financeiro: Programa Universal – CNPq. Email: vera@cenargen.embrapa.br

Brachiaria, nativas da África, apresentam forrageiras bem adaptadas às condições edafo-climáticas do Brasil, ocupando extensa área de pastagem em regiões de solo ácidos e pobres. *Brachiaria brizantha* apresenta modo de reprodução sexual e assexual, por apomixia, que gera plantas idênticas à planta-mãe, acarretando numa baixa variabilidade genética. Uma demanda do programa de melhoramento de *Brachiaria* é a introdução de variabilidade por técnicas de transformação, outra é a quebra da apomixia, liberando o pool de genes das plantas apomíticas. Para contribuir com o melhoramento, usando a biotecnologia, desenvolvemos métodos de regeneração *in vitro* de plantas de *B. brizantha* apomítica (BRA 000591) e sexual (BRA 00274). Estas foram introduzidas *in vitro* a partir de gemas axilares de plantas do campo. As gemas foram desinfestadas e cultivadas em meio LS suplementado com ANA 1mgL⁻¹ e KIN 3mgL⁻¹ para induzir multibrotação. Plântulas derivadas das multibrotações cultivadas em meio sem regulador de crescimento serviram de fonte de segmentos de 0.5 cm da base estolonífera, logo acima das raízes (chamados aqui segmentos basais). Segmentos basais de plantas sexuais e apomíticas e sementes maduras de apomíticas foram cultivados em meios suplementados com 2,4-D (M1, M1.2 ou MSCLind) para indução de embriogênese somática. Calos brancos compactos e calos friáveis oriundos dos diferentes explantes foram transferidos para meios de regeneração com ANA, KIN em diferentes concentrações (MS1, MS2 ou MSCLreg). Plântulas de *B. brizantha* sexual e apomítica foram obtidas de calos embriogênicos de segmentos basais. No caso das plantas sexuais, de produção limitada de sementes, esta técnica viabiliza sua introdução em programas de biotecnologia. O sistema de embriogênese indireta da planta apomítica foi otimizado, atingindo 80% de regeneração de plantas no total de sementes inoculadas.

1363

Alterações histológicas durante o desenvolvimento *in vitro* de embriões somáticos de *Coffea canephora* Pierre ex Fröehner

Júlio Zoé de Brito¹; Arnóbio Gonçalves de Andrade²; Maria Filomena Carneiro³; Lília Willadino²; Terezinha Camara²; Rejane Pimentel²; Cláudia Ulisses¹

¹CETENE - CEP 50740-540 Recife, PE, Brasil; ²UFRPE - CEP 52171-900 Recife, PE, Brasil; ³Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro – Oeiras – Portugal. E-mail: zoe@elogica.com.br

Visou-se estudar as alterações histológicas durante a embriogênese somática de *Coffea canephora*. Discos foliares foram desinfestados