



190 – ANORMALIDADES EMBRIONÁRIAS E GENOTOXICIDADE PROMOVIDAS PELO ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA INDIRETA EM *Coffea*: DO GENOMA AO FENÓTIPO

JOÃO PAULO DE MORAIS OLIVEIRA¹; ALEX JÚNIOR DA SILVA²; MARIANA NEVES CATRINCK²; WELLINGTON RONILDO CLARINDO².

¹Universidade Federal do Espírito Santo; ²Universidade Federal de Viçosa.

INTRODUÇÃO

A embriogênese somática indireta (ESI) envolve a formação de calos e embriões somáticos a partir de células somáticas. O 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) é uma auxina sintética, amplamente utilizada na ESI em *Coffea*, especialmente na etapa de indução da calogênese. O 2,4-D pode ocasionar variações genéticas e/ou epigenéticas, e, conseqüentemente, fisiológicas e morfológicas, afetando a regeneração e/ou resultando em embriões somáticos anormais. Nesse estudo, nós investigamos o efeito genotóxico e fitotóxico do 2,4-D durante a ESI em *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, analisando a morfologia dos embriões somáticos, os níveis globais de 5-metilcitosina e os danos na molécula de DNA.

METODOLOGIA

Explantos foliares de *C. arabica* e *C. canephora* foram inoculados em meio de indução de calos constituído com 2,15 g L⁻¹ 1/2 MS basal, 10 mL L⁻¹ de vitaminas B5, 30 g L⁻¹ de sacarose, 0,08 g L⁻¹ L-cisteína, 0,4 g L⁻¹ de extrato de malte, 0,1 g L⁻¹ de caseína hidrolisada, 4,44 µM de 6-benzilaminopurina (BAP), 2,8 g L⁻¹ de Phytigel, pH = 5,6, e suplementado com 9,06, 18,08, 36,24 ou 54,36 µM 2,4-D, mantidos por 90 dias no escuro. Os calos foram transferidos para meio de regeneração, suplementado com 4 g L⁻¹ de carvão ativado, mantidas no escuro a 25°C por 240 dias. Os embriões somáticos foram cultivados em meio de recuperação de plântulas, mantidas em sala de crescimento sob regime claro/escuro de 16/8 h a 25°C. Para quantificar o nível de 5-metilcitosina, amostras de folha dos doadores de explantes, calo friável, calo embriogênico, embriões somáticos e embriões somáticos anormais foram coletados e o DNA genômico extraído. A 5-metilcitosina foi analisada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O nível genômico de citosina metilada foi calculado: nível de 5-metilcitosina = [5-metilcitosina/(citosina + 5-metilcitosina)] × 10.

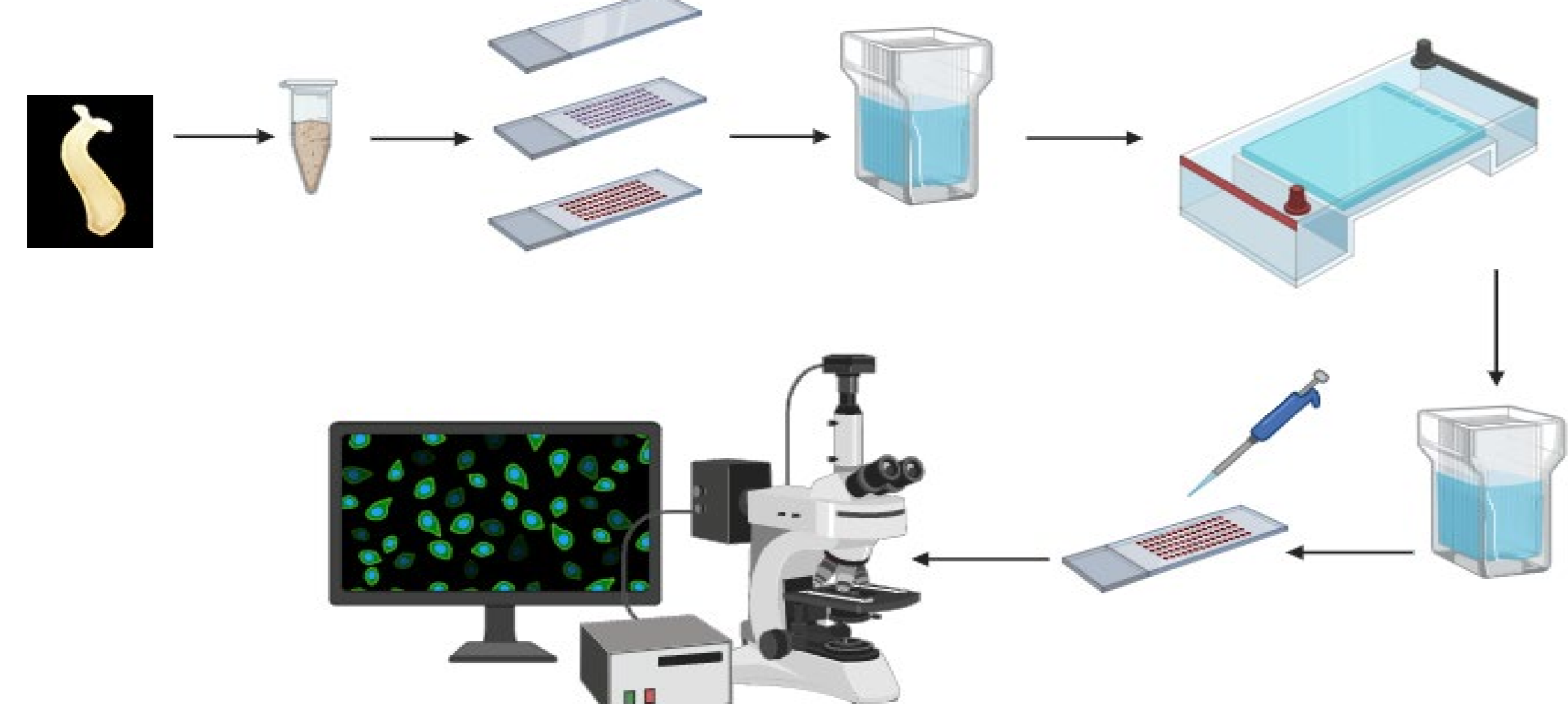


Fig 1. Ensaio cometa.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

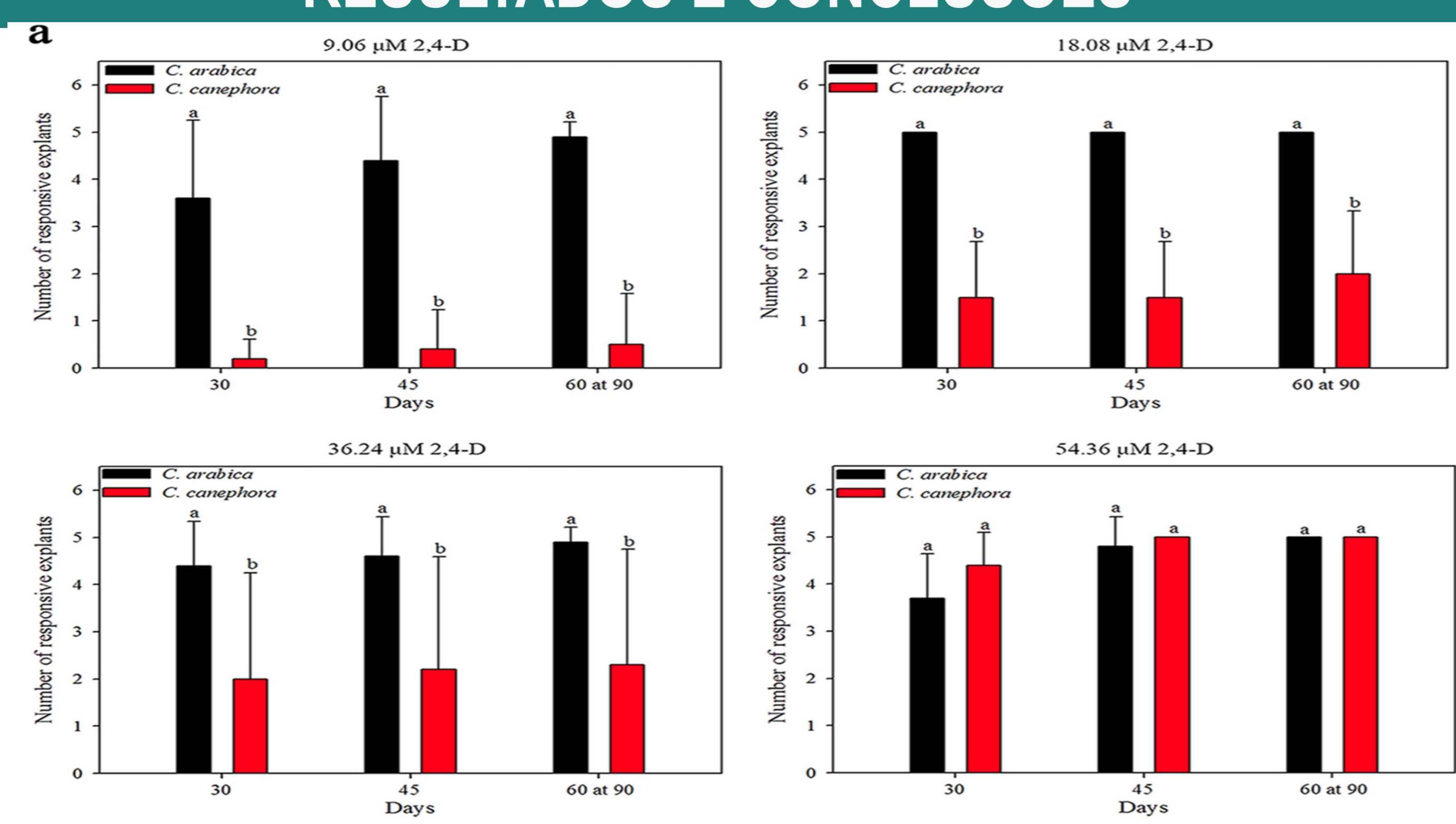


Fig 2. Indução de calo friável de *C. arabica* e *C. canephora* em diferentes concentrações de 2,4-D.

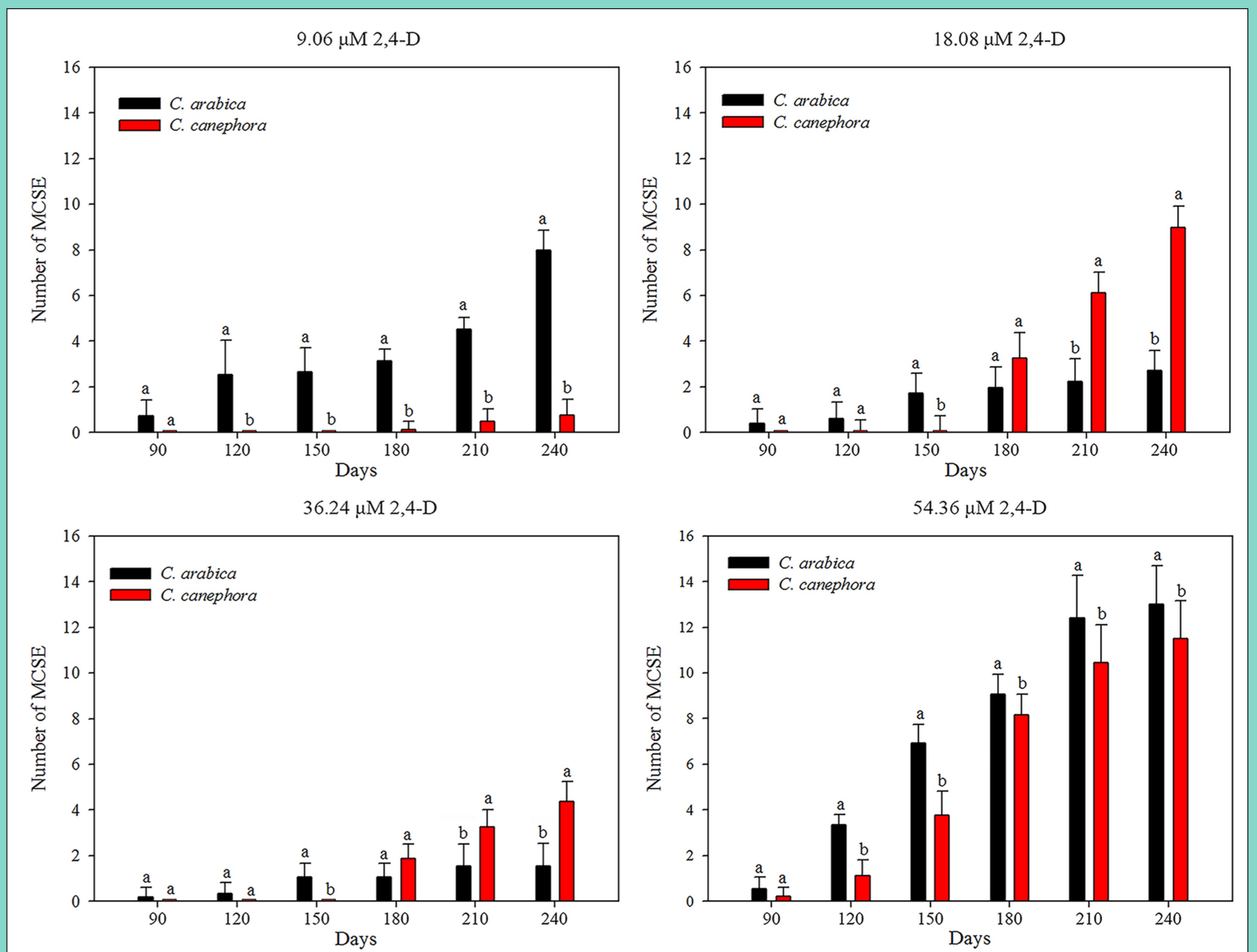


Fig 3. A origem do calo friável (9,06–54,36 µM 2,4-D) influenciou a regeneração do embriões somáticos em *C. arabica* e *C. canephora*.

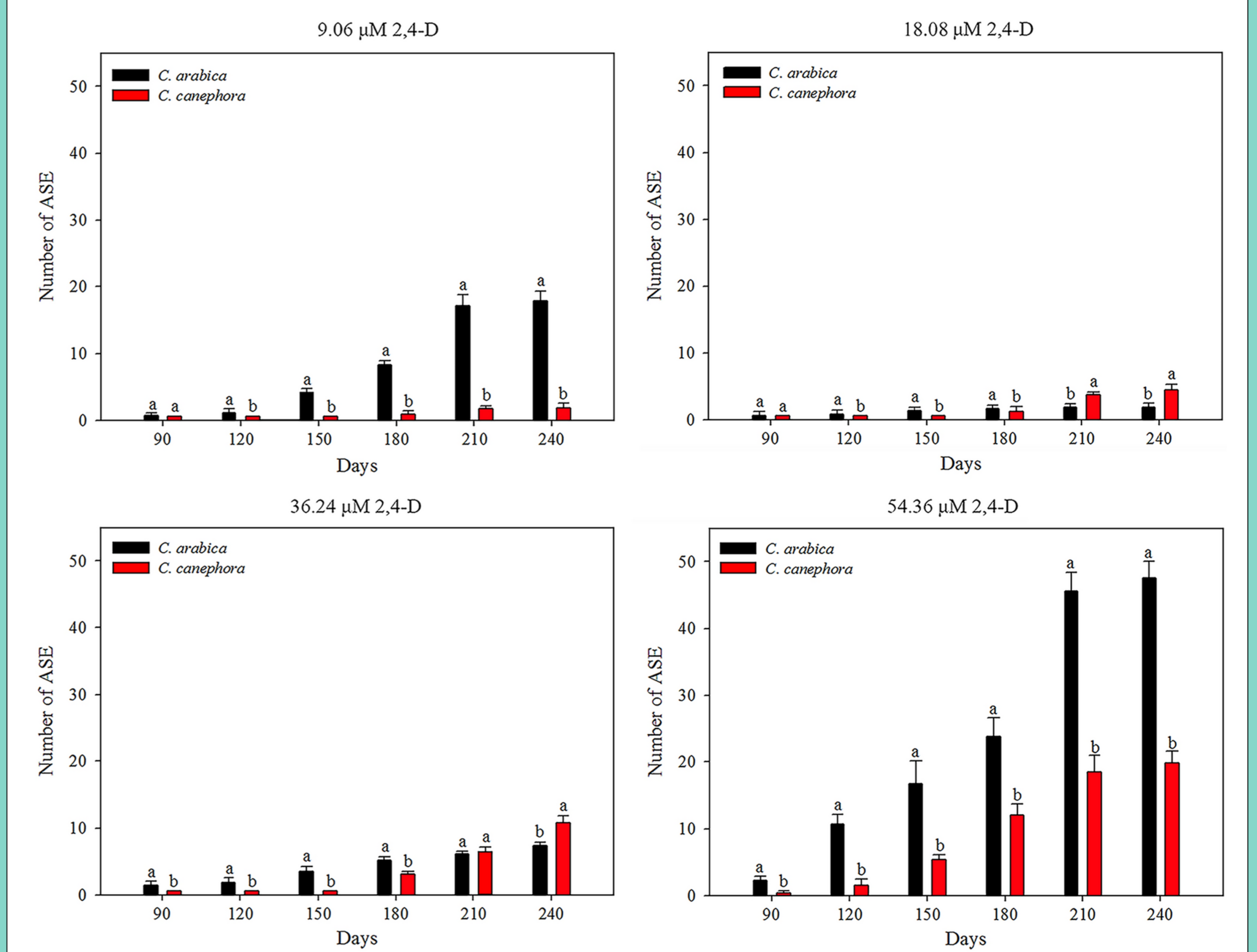


Fig 4. A origem do calo friável (9,06 – 54,36 µM 2,4-D) influenciou a regeneração do embriões somáticos anormais em *C. arabica* e *C. canephora*.

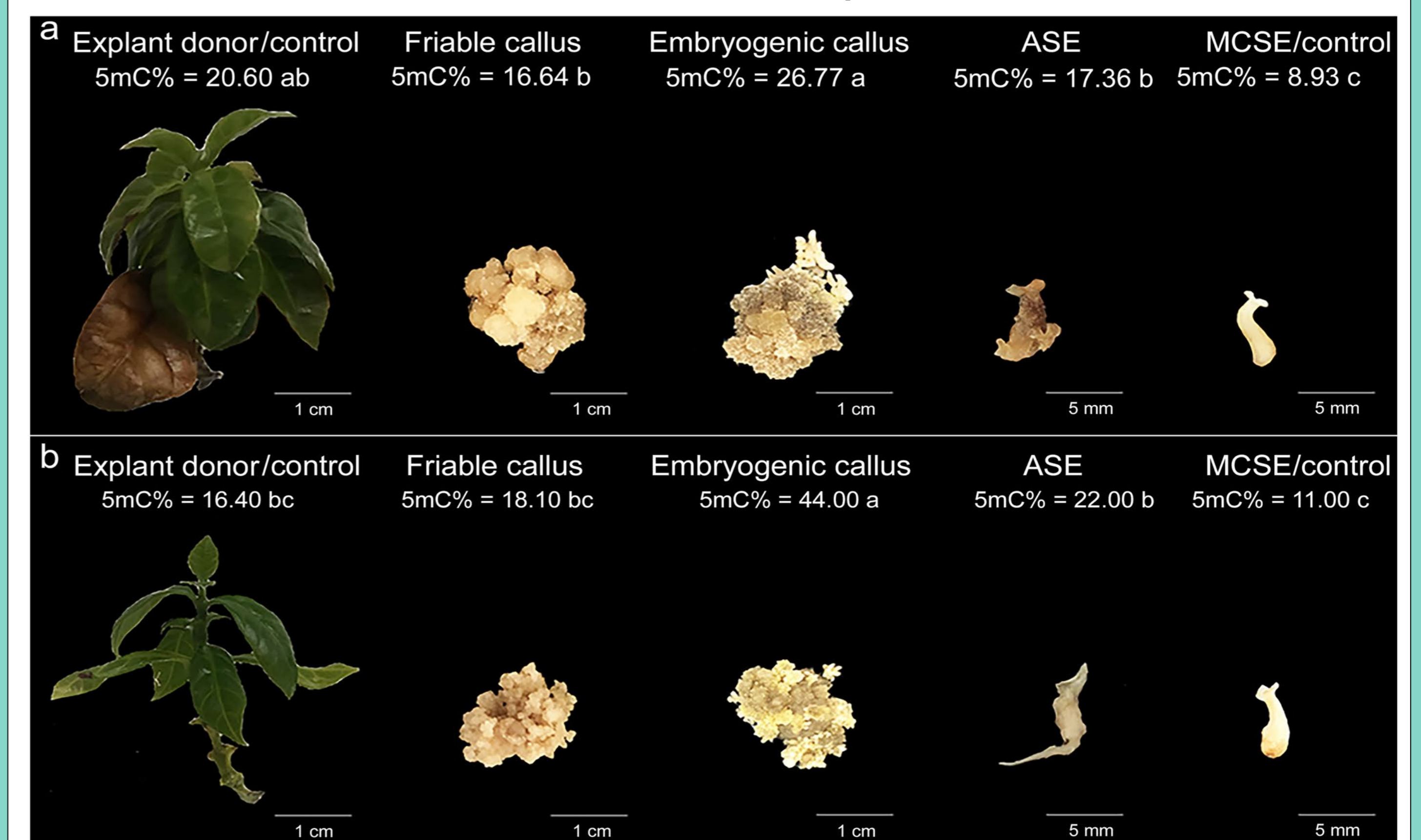


Fig 5. Níveis de 5-mC% em *C. arabica* e *C. canephora*.

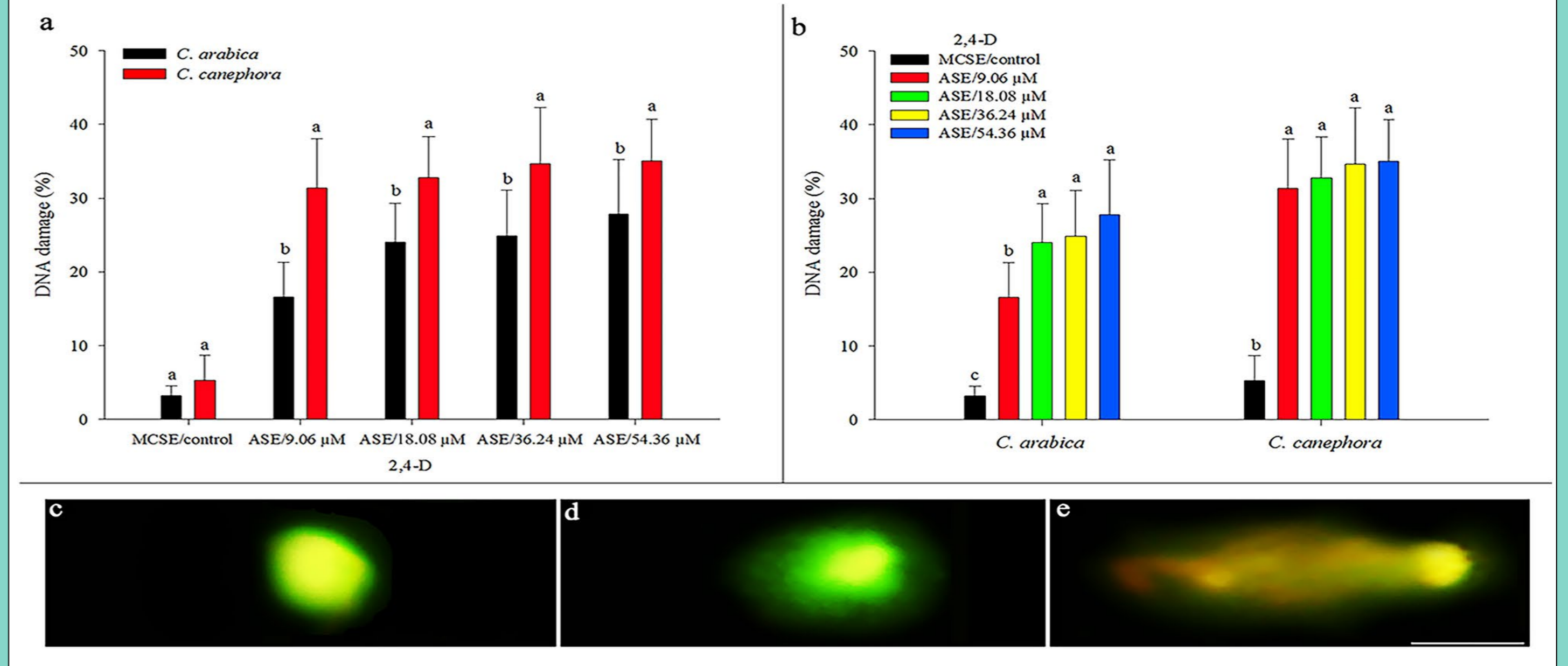


Fig 6. % de danos ao DNA em embriões somáticos normais e anormais de *C. arabica* e *C. canephora*.

AGRADECIMENTOS

