

posição lateral sobre três tipos de meio sólido e um de meio líquido e a incubação das placas no escuro ou sob fotoperíodo de 16 horas, a $26 \pm 1,0$ C. Para a regeneração de plantas, os calos foram transferidos para um meio sem reguladores de crescimento. Embora os micrósoros apresentassem alta taxa de viabilidade quando plaqueados, os materiais testados mostraram-se pouco responsivos, havendo formação de calos em apenas três genótipos e regeneração de plantas em apenas uma linhagem, indicando que a metodologia utilizada não permitiu a incorporação da cultura de anteras como método rotineiro para a produção de linhagens de milho. - *Carlos Henrique Siqueira de Carvalho, Paula Cristina Silva Angelo, Ricardo Magnavaca, Elto Eugenio Gomes e Gama.*

PRODUÇÃO DE CALOS DE MILHO DO TIPO II EM CULTURAS DE LONGA DURAÇÃO

Os calos embriogênicos de milho cultivados in vitro têm sido classificados em dois tipos: Tipo I (calo duro e compacto) e Tipo II (calo macio, friável e de rápido crescimento). Os calos do Tipo II podem ser cultivados por um longo tempo "in vitro" e permitem o estabelecimento de culturas de células em suspensão e de protoplastos, sendo mais adequados para os trabalhos de transformação de plantas, em que é necessária a manipulação de células em suspensão. Todavia, para a maioria dos genótipos, esses calos são relativamente difíceis de serem obtidos.

Visando identificar genótipos de milho de origem tropical capazes de formar calos do Tipo II, 106 genótipos do programa de melhoramento de milho do CNPMS foram estudados para essa característica.

Para a indução dos calos, usaram-se embriões imaturos como explantes (1,0 a 2,0 mm) e meio contendo sais minerais N6, sacarose (30 g/l), casaminoácidos (100 mg/l), glicina (30 mM), tiamina (15 μ M), ácido nicotínico (7,5 μ M), piridoxina (7,5 μ M), mioinositol (550 μ M), Dicamba (30 μ M) e gelrite (2,3 g/l). Os calos foram mantidos no escuro, a 26 ± 1 C, em placas de Petri e subcultivados a cada 21 dias.

Durante os primeiros meses de cultivo, todos os genótipos produziram apenas calos duros do Tipo I. Calos friáveis só foram identificados onze meses após o plaqueamento dos embriões. Foram selecionados oito genótipos com calos do Tipo II. Em três genótipos os calos eram macios, mucilaginosos e com um grande número de embriões somáticos nas superfícies, nos outros cinco, os calos eram friáveis, não mucilaginosos e com um menor número de embriões somáticos. Durante a manutenção dos calos, a adição de prolina a 6 mM aumentou a formação de setores do Tipo II.

Os 20 genótipos mais adaptados ao cultivo in vitro foram novamente plantados e plaqueados no mesmo meio anteriormente usado, mas com a adição de 6 mM de prolina. Nesse caso, foi possível o isolamento de calos friáveis em sete genótipos, apenas três a oito semanas após o plaqueamento. Os calos selecionados apresentaram alta capacidade de regeneração de plantas a partir de pedaços de calos ou embriões somáticos isolados. - *Carlos Henrique Siqueira de Carvalho, Patrícia Nascimento Bordallo, Edilson Paiva, Fernando Hercos Valicente, Manoel Xavier dos Santos.*

EFEITO DE DICAMBA E AgNO_3 NA PRODUÇÃO DE CALOS DO TIPO II EM MILHO

Vários trabalhos têm relatado o efeito do AgNO_3 sobre a produção de calos do Tipo II em milho. O AgNO_3 controla a ação do etileno competindo por seu sítio de ligação e aumentando a embriogênese somática e a regeneração de plantas, em várias espécies de monocotiledóneas. Esse resultado já foi observado em algumas linhagens de milho adaptadas a clima temperado. Por outro lado, o uso de Dicamba, uma auxina sintética, tem também aumentado a embriogênese somática e a iniciação de calos em vários genótipos de trigo e de milho.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de Dicamba, de AgNO_3 e da interação Dicamba e de AgNO_3 na produção de calos do Tipo II em genótipos tropicais de milho. Foram usados 45 genótipos de milho do programa de melhoramento de milho do CNPMS (Tabela 44). Para a produção de calos, foram usados 8.000 embriões imaturos, com 13 a 20 dias de idade e 1,0 a 2,0 mm de comprimento. Os meios para a produção de calos embriogênicos do Tipo II eram compostos de sais minerais N6, sacarose (30 g/l), casaminoácidos (100mg/l), glicina (30 mM), tiamina (15 μ M), ácido nicotínico (7,5 μ M), piridoxina (7,5 μ M), mioinositol (550 μ M), prolina (25 mM), e suplementados com 15 μ M (CM-15) ou 30 μ M (CM-30) de Dicamba, na presença ou ausência de 15 mg/l de AgNO_3 (meios CM-15Ag e CM-30Ag, respectivamente). O pH dos meios foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Todas as culturas foram mantidas no escuro a 26 ± 1 C. Aos 21 dias de idade, foi avaliada a percentagem de calos embriogênicos do Tipo II em cada genótipo. Foi feita análise de variância após a transformação dos dados em arco seno e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan (0,05).

TABELA 44. Base genética e origem dos genótipos de milho testados. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1993.

Genótipo ¹	Base Genética
I1233	CMS 01 (Mezcla Amarilla) CNPMS
I1234	CMS 01 (Mezcla Amarilla) CNPMS
I565	Br 111 - Pool 21 CIMMYT (8)*
I052	Br 111 - Pool 21 CIMMYT (8)*
I016	Br 106 - variety Tuxpeno - CNPMS
I022	Br 106 - variety Tuxpeno - CNPMS
I377	Br 112 - Pool 22 CIMMYT (8)*
I369	Br 112 - Pool 22 CIMMYT (8)*
I340	Br 112 - Pool 22 CIMMYT (8)*
I366	Br 112 - Pool 22 CIMMYT (8)*
I389	Br 112 - Pool 22 CIMMYT (8)*
I398	Br 112 - Pool 22 CIMMYT (8)*
I723	CMS 03 - Amarillo Cristalino
I1154	BR 105 - Suwan (8)*
I1149	BR 105 - Suwan (8)*
I1141	BR 105 - Suwan (8)*
I1176	BR 105 - Suwan (8)*
I048	BR 105 - Suwan (8)*
I704	BR 105 - Suwan (8)*
I705	BR 105 - Suwan (8)*
I706	BR 105 - Suwan (8)*
OP451	BR 451 - CNPAMS
I1344	Catete ESA
I1345	Catete
I1346	Catete Catete Água Limpa
I1347	Catete Catete Água Limpa
I1351	Azteca
I1352	Azteca
I073	CMS 35 - Pool 18 CIMMYT (5)*
I084	CMS 17 - Pool 34 CIMMYT
I132	CMS 17 - Pool 34 CIMMYT
I102	CMS 16 - Pool 33 CIMMYT
I150	CMS 15 - Pool 26 CIMMYT
I151	CMS 15 - Pool 26 CIMMYT
I182	CMS 15 - Pool 26 CIMMYT
I186	CMS 15 - Pool 26 CIMMYT
I273	CMS 28 - Tuxpeno Amarelo (8)*
I298	CMS 14 - Pool 25 CIMMYT (5)*
I299	CMS 14 - Pool 25 CIMMYT (5)*
I699	CMS 25 - Catete Colômbia
I703	CMS 24 Amarillo Subtropical
I1105	CMS 52 CNPMS
I1106	CMS 52 CNPMS
I1109	CMS 52 CNPMS
I1215	Tuxpan

¹I: Linhagem

OP: Variedade de polinização aberta.

Dos 45 genótipos testados, 42 produziram calos embriogênicos, sendo que desses 42, 61,9% (26 genótipos) produziram calos friáveis do Tipo II, em uma frequência que variou de 1,3 a 41,4%, evidenciando o alto potencial do germoplasma tropical para a produção de calos do Tipo II (Tabela 45).

TABELA 45. Produção de calos do Tipo II, em percentagem, nos 45 genótipos de milho testado. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1993.

Genótipo	CM - 15	CM - 30	CM - 15Ag	CM - 30Ag
377	0,0	0,0	-	0,0
565	0,0	3,33	-	-
BR 451	-	-	-	-
1179	0,0	0,0	-	-
1346	36,57	41,67	-	-
182	0,0	0,0	-	-
1141	0,0	1,81	-	-
1345	5,68	1,39	19,44	22,22
150	1,39	5,00	-	-
1176	9,72	19,44	-	-
1234	0,0	0,0	-	-
298	0,0	1,39	0,0	-
1154	0,0	2,27	3,63	-
84	-	0,0	0,0	-
1233	0,0	-	-	-
132	0,0	0,0	-	-
16	-	0,0	23,50	-
151	0,0	-	0,0	0,0
186	0,0	-	10,0	-
1344	12,01	20,77	18,94	-
706	3,67	-	25,0	-
73	2,27	4,58	9,72	-
369	0,0	-	0,0	-
48	0,0	4,17	5,56	8,33
102	0,0	-	-	6,67
723	1,39	-	-	2,78
273	0,0	-	0,0	-
1352	0,0	-	0,0	-
1351	0,0	-	0,0	-
052	1,67	-	8,33	-
1347	0,0	-	0,0	-
703	0,0	8,33	0,0	9,72
389	4,35	7,08	7,20	12,88
704	12,50	-	0,0	-
1109	0,0	-	9,03	-
340	7,78	0,0	15,28	-
705	1,54	-	0,0	-
366	1,39	6,25	3,03	14,81
022	0,0	-	0,0	-
699	0,0	-	0,0	-
1106	3,33	-	18,33	-
1105	0,0	-	0,0	-
1215	16,67	-	36,11	-
Média	3,04	5,79	7,35	13,02

A produção de calos do Tipo II aumentou quando se elevou a dose de Dicamba de 15 para 30 uM, e com a adição de AgNO₃ ao meio. Foi observado também um efeito sinérgico na produção de calos do Tipo II no meio CM-30Ag, que recebeu AgNO₃ e 30 uM de Dicamba, sendo o CM-30Ag o melhor meio para a produção de calos friáveis. - Carlos Henrique Siqueira de Carvalho, Patrícia Nascimento Bordallo, Nívia Lino Abreu, Edilson Paiva, José Edson Fontes Figueiredo, Fernando Hercos Valicente.