

In vitro* Selection of *Coffea arabica* Callus and Cell Suspensions for Resistance to Phytotoxic Culture Filtrates from *Colletotrichum coffeanum

N. E. NYANGE¹, R. J. McNICOL², B. WILLIAMSON², G. D. LYON²

¹Agricultural Research & Training Institute, Lyamungu, PO Box 3004, Moshi, Tanzania

²Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, Scotland, UK

SUMMARY

Resistance to the fungal pathogen *Colletotrichum coffeanum* which causes coffee berry disease in *Coffea arabica* is an important trait for cultivars grown in East and Central Africa. Calli and cell suspension cultures derived from hypocotyl explants of both susceptible and resistant cultivars “N39” and Hybrido de Timor respectively, were selected for their resistance to partially-purified phytotoxic culture filtrates produced by the fungus. Growth of calli was measured non-destructively by automated image analysis to determine callus size. For quantitative measurements of the phytotoxin-treated cells, fluorescein diacetate (FDA) staining and a colorimetric assay utilising a tetrazolium salt, MTT [3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] were employed. Differential responses of calli and cells ranged from necrosis and reduced growth to no necrosis and normal growth. Growth and viability of cells of the susceptible cultivar was significantly reduced. Results demonstrate that selection of toxin-resistant calli and cells can be achieved using the method. Several somatic embryos and shoots have been regenerated from the selected calli and cells, and will be tested subsequently to confirm the stability of the resistance.

RÉSUMÉ

La résistance au champignon pathogène *Colletotrichum coffeanum* responsable du "coffee berry disease" chez le *Coffea arabica* est un caractère important pour les variétés cultivées en Afrique de l'Est et Centrale. Les cals et les suspensions de cellules obtenus de segments d'hypocotyle de N39 et Hybrido de Timor, variétés susceptibles et résistantes respectivement ont été sélectionnés pour leur résistance à des filtrats de culture phytotoxiques partiellement purifiés du champignon. La croissance des cals a été déterminée d'une manière non destructive par la méthode 'automated image analysis' en mesurant la taille des cals. La détermination quantitative de l'effet du traitement des cellules avec la phytotoxine a été faite en teignant avec "fluorescein diacetate (FDA)" et un test colorimétrique avec un sel de tetrazolium, MTT [3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]. Les réactions varient d'une nécrose et une pousse ralentie à une absence de nécrose et une pousse normale. La pousse et la viabilité des cellules de la variété susceptible ont été considérablement réduites. Les résultats ont démontré que la sélection des cals et cellules résistants à la toxine peut se faire par cette méthode. Plusieurs embryons somatiques ont été régénérés des cals et cellules sélectionnés et seront examinés afin de confirmer la stabilité de la résistance.