

Haploid Cell Colony Formation from Mechanically Isolated Microspores of *Coffea arabica*

B. NEUENSCHWANDER¹, M. DUFOUR², T. W. BAUMANN³

¹University of Zürich/CIRAD/CATIE, Turrialba, Costa Rica

²CIRAD/CATIE/IICA-PROMECAFÉ, Turrialba, Costa Rica

³University of Zürich, 8008 Zürich, Switzerland

ABSTRACT

Mechanically isolated microspores of *C. arabica* were induced to undergo androgenesis resulting in haploid cell colony formation. The isolation was performed on anthers after excision from the buds precultured for two days and prior to culture initiation. Microspore cultures were initiated on half strength Murashige and Skoog medium with 6-12% sucrose. Low sugar concentration and the addition of various growth regulators did not increase the number of responding microspores. The microspore developmental stage suitable for androgenesis proved to be the mid- till late uninucleate. An androgenetic response was early marked by a 3 to 5-fold volume increase of 40% of the microspores. Microspore division started at day 5. At day 12 to 15, the stationary microspore suspension was found to contain microspores with the completed first equal or unequal division as well as cell colonies resulting from further divisions of either the generative or the vegetative cell. This represents the first step to establish an efficient, single, haploid cell regeneration system for coffee which may be used for doubled haploid line production allowing the selection for recessive traits and the use of the large amount of genetic variation through meiotic recombination.

RÉSUMÉ

Des microspores isolées de façon mécanique de *C. arabica* ont subi une induction androgénétique formant ainsi des colonies de cellules haploïdes. L'isolement a été réalisé sur des anthères isolées de boutons floraux ayant été cultivés deux jours avant l'initiation de la culture. Les cultures de microspores ont été initiées sur un milieu de Murashige et Skoog dilué de moitié contenant de 6 à 12% de saccharose. De faibles concentrations en sucre et l'addition de régulateurs de croissance variés n'ont pas amélioré le nombre de microspores réactives. Il a été montré que le stade de développement de la microspore le plus adéquat se situe entre les stades uninucléés médian et tardif. Une réponse androgénétique est marquée par une augmentation de volume de 3 à 5 fois pour 40% des microspores. La première division est observée au 5ème jour. Après 12 à 15 jours, la suspension stationnaire de microspores contient à la fois des cellules ayant complété leur première division, symétrique ou asymétrique selon le cas, ainsi que des colonies cellulaires résultant de divisions ultérieures de la cellule "générative" ou "végétative". Cette recherche représente la première étape pour établir une régénération efficace à partir de cellules haploïdes de café, ceci pouvant être utilisé pour la production de lignées haploïdes-doublées permettant ainsi la sélection de caractères récessifs et l'utilisation d'une variabilité génétique étendue grâce à la recombinaison méiotique.