

## PRODUÇÃO EM LARGA ESCALA DE MUDAS CLONAIS DE *Coffea arabica* VIA EMBRIOGENESE SOMÁTICA

Joyce Meire Gomes Ferreira, Carlos Stern Neto, Clayton Debiasi\* SBW do Brasil agrofloricultura

A intensificação da agricultura e o desenvolvimento de novas tecnologias do agronegócio brasileiro contribuíram para o crescimento da produtividade e qualidade do café nacional. Dada a importância socioeconômica desta cultura, diversas pesquisas tem sido realizadas no intuito de melhorar ainda mais a qualidade do café, aumentando o rendimento das lavouras, reduzir os custos e minimizar os riscos ao meio ambiente. Empresas especializadas e centros de pesquisa estão investindo fortemente no melhoramento genético do cafeeiro e em novas tecnologias para tornar a cafeicultura cada vez mais vantajosa. Uma das últimas inovações na multiplicação *in vitro* de espécies lenhosas, como o café, é a embriogênese somática. Com o desenvolvimento de heterozigotos criteriosamente selecionados e a inovação tecnológica, empresas de produção de mudas *in vitro* podem trazer grandes avanços à cafeicultura. Atenta às exigências do mercado, a SBW do Brasil, junto ao Instituto Biosomática, se apresentam como incorporadoras de tecnologias e produtos. A meta é dar condições para o produtor melhorar a qualidade de sua lavoura, tornar a agricultura lucrativa e beneficiar todos os setores da produção envolvidos. O uso de bioreatores é o processo mais promissor para escalonar a produção *in vitro* de café, particularmente através da embriogênese somática. Porém há muitos ajustes a serem realizados. O desenvolvimento de um sistema de produção eficiente para a embriogênese somática poderia aumentar a produção em massa de clones selecionados de *Coffea arabica*. A tecnologia dos bioreatores têm sido aplicados na regeneração do café em fase experimental para otimizar a produção em massa de embriões somáticos, a partir de tecidos embriogênicos. O escalonamento do processo de embriogênese somática pode ser útil para o contexto sócio-econômico do cultivo do café. O grande desafio é tornar dados experimentais em produto passível de uso em escala comercial. Assim, focou-se no desenvolvimento e otimização de protocolos voltados para produção em massa de mudas clonais de cafeeiro utilizando-se da embriogênese somática, associada com biorreatores de imersão temporária. Inicialmente, dois genótipos de *C. arabica* foram selecionados para uso neste trabalho de escalonamento. A multiplicação das mudas clonais se deu a partir de folhas jovens oriundas de ramos plagiotrópicos do cafeeiro. Índices de contaminação e oxidação, percentagem de formação de calos, taxa de multiplicação e conversão de embriões e o desenvolvimento dos embriões foram fatores relevantes para a viabilização deste processo. A infestação de patógenos, os danos mecânicos durante a colheita ou a própria receptividade resultaram no alto índice de contaminação após a incubação dos explantes e o aumento na produção de metabólitos secundários. Este dificultou o processo de regeneração do explante devido à elevada oxidação dos segmentos foliares. Matrizeiros que apresentaram déficit nutricional também apresentaram maior índice de oxidação. Tanto a contaminação quanto a oxidação dos explantes influenciaram no rendimento da produção. Sabe-se que a formação de calos do cafeeiro está intimamente relacionada com a oxidação, uma vez que os calos se formam nas extremidades do explante. A variabilidade entre os genótipos provocou diferenças entre o tempo de duração do processo, levando o tempo mínimo de 14 meses e o máximo de 20 meses. Para um primeiro híbrido de *C. arabica* foram selecionadas 200 folhas, das quais foram obtidos cerca de 12.000 explantes. Somente 3% dos explantes mostraram-se responsivos ao tratamento utilizado. Considerando que o peso médio dos calos de 65mg, a quantidade de células embriogênicas inicial foi de 1,75g. Após a fase de multiplicação, a quantidade das mesmas foi de 11,30g. Utilizando-se de 10g, foram regenerados 270.000 embriões, cuja germinação e maturação se deram em torno de 95,37%. Devido ao problema de sincronização do desenvolvimento dos embriões, há parcelas de plântulas em diferentes estágios. Sendo que, 3,1% dos embriões ainda se encontram na fase de pré-cotiledonar. Nas fases de alongamento e enraizamento se concentram 64.376 plântulas. Apenas 4000 plantas foram aclimatizadas. Calcula-se uma eficiência de 70% do processo de aclimatização e 30% do processo de regeneração considerando o período compreendido logo após a conversão dos embriões até o momento de envio para aclimatização. Para um segundo híbrido mais promissor foram iniciadas 65 folhas, as quais geraram 3800 explantes. Destes, 70 explantes produziram cerca de 65mg de calos embriogênicos aos 150 dias após a iniciação, e 80 mg ao fim de 200 dias. Todo esse potencial de formação de setores embriogênicos gerou cerca de 6g de calos embriogênicos antes da multiplicação. Somente 4g continuaram na rota de regeneração utilizada. Na sexta semana de cultivo, em meio de multiplicação, a quantidade de calos embriogênicos aumentou 4,5 vezes, resultado este extremamente significativo e, durante a regeneração, esse volume duplicou. Observamos que o aumento superior a 10 vezes não permitiu a regeneração de células. Mais de 1000000 de embriões foram regenerados a partir de 10g de células embriogênicas. Foram mantidos somente 16% na rota embriogênica, as quais 32.310 plântulas se encontram na fase de alongamento e enraizamento. No presente momento, apenas 10.000 plântulas está na fase de aclimatização e as demais estão nas fases anteriores. A eficiência do protocolo aplicado para este híbrido está em torno de 380% considerando o período da iniciação até o enraizamento. Com os ajustes que ainda deverão ser realizados para a produção em larga escala, esses números poderão aumentar. Estudos com número maior de genótipos esclarecerão a variabilidade da eficiência do processo e tempo de duração apresentados pelos genótipos em questão.