

COMPARAÇÃO DE EFICIÊNCIA ECONÔMICA ENTRE MÉTODOS DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *COFFEA CANEPHORA* *IN VITRO* E CAMPO

Carolina Augusto de Souza, UNIR.
Maurício Reginaldo Alves dos Santos, EMBRAPA.
Josilene Felix da Rocha, UFL.
Leonardo Ventura de Araujo EMBRAPA.
Marcelo Curitiba Espindula EMBRAPA.

Resumo

Coffea canephora é uma espécie de café rústica, tolerante à seca e resistentes a doenças que comumente afetam *C. arabica*. Ele contribui para cerca de 35% da produção mundial de café e é vantajoso para a indústria do café solúvel. Propagação de *C. canephora* por sementes é indesejável porque este método resulta em alta heterozigose e grande variabilidade genética entre as populações. Sua propagação vegetativa é uma alternativa para evitar esse problema e tem sido alcançado com sucesso por ambos métodos *in vitro* e de campo, principalmente por embriogênese somática e enraizamento de estacas, respectivamente. O objetivo deste estudo foi abordar a viabilidade das duas formas de propagação, comparando o custo e o tempo para a produção de novas mudas e número de mudas produzidas em cada sistema de propagação. Tendo como resultado o custo final de uma plântula produzida sob condições *in vitro* é de US\$- 0.23, enquanto que em condições de campo é de US\$-0.12, recursos humanos sendo o mais alto custo em ambos os sistemas. O todo em processo *in vitro* leva 465 dias, em comparação com 345 dias tomadas nos procedimentos de campo, a aclimação de mudas, sendo a atividade mais longa do processo *in vitro*. No entanto, uma única planta dá origem a 20.131,8 plântulas através do sistema *in vitro*, e apenas 180,2 plântulas por meio do sistema de campo. A propagação de *C. canephora* por embriogênese somática é mais caro e demora mais tempo do que a propagação de enraizamento das estacas, apesar do fato de que o primeiro permite a produção de muito mais plântulas por planta matriz. *In vitro*, os procedimentos podem ser mais eficientes apenas quando o número de plantas de matriz é restritivo, como no caso do lançamento de novas cultivares.

Palavras-chave: Embriogênese Somática. Estaquia. *Coffea Canephora*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal produtor e o maior exportador mundial de café, o estado de Rondônia é o sexto maior produtor de café do Brasil e o segundo maior produtor da espécie robusta, sendo que a produção é realizada por pequenos produtores e mão de obra familiar (CONAB, 2014). *C. canephora* fornece a principal fonte de resistência a doenças e pragas características não encontradas em *C. arabica*, incluindo ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), Coffee Berry Disease (*Colletotrichum kahawae*) e nematóides das galhas (*Meloidogyne* spp.) (PHILIPPE et al., 2009) e por isso está sendo usado em programas de melhoramento, através dos quais híbridos interespecíficos entre *C. arabica* e *C. canephora* foram produzidas com sucesso (LASHERMES et al, 2011; PRESCOTT-ALLEN e PRESCOTT-ALLEN, 2013).

As flores auto incompatíveis de forma que a polinização ocorre de forma cruzada. É diploide ($2n = 2x = 22$ cromossomos) e alógama, apresentando incompatibilidade do tipo gametofítica (FERRÃO et al., 2007). Portanto, a propagação vegetativa é uma alternativa para evitar a variabilidade e tem sido conseguido com êxito para a propagação das espécies. Entre os disponíveis técnicas *in vitro*, embriogênese somática é a mais utilizada para *C. canephora* propagação, pois permite a regeneração de plantas a partir de numerosas pequenas tecidos vegetais ou órgãos e pode ser usado para a propagação clonal em larga escala de cultivares elite, proporcionando uma abordagem alternativa a micropropagação convencional (ARNOLD, 2008; DEO et al, 2010;.. SANTOS et al, 2010). Em relação à propagação dessa espécie em condições de campo, o enraizamento de estacas é o método mais usado, pois permite a manutenção das características genéticas das plantas parentais, garantindo maior uniformidade das culturas, entre outras características desejáveis, além do número elevado de segmentos nodais produzidos por uma única planta (SANTOS et al, 2013; VERDIN FILHO et al, 2014). Estes sistemas de propagação de *C. canephora* são protocolos de rotina atuais e têm sido praticados e melhorados a Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e outras instituições brasileiras para um número de anos (FONSECA et al., 2007; SANTOS et al., 2010). Este estudo apresenta uma comparação entre os dois métodos de propagação de *C. canephora*, tendo em conta o custo e o tempo para a produção de novas mudas e número de plântulas produzidos por planta matriz.

METODOLOGIA

Os valores estabelecidos para a produção de mudas por embriogênese somática no Laboratório de Planta Cultura de Tecidos da Embrapa Rondônia (Porto Velho, Brasil) e pelo enraizamento de estacas no campo experimental da mesma instituição foram usadas como base para a comparação de em sistemas *in vitro* e no campo. Folhas e estacas utilizadas em ambos os sistemas vêm de *C. canephora* cv. Plantas BRS Ouro Preto, compostas por 15 genótipos.

No sistema de propagação *in vitro* ocorre a desinfestação das folhas que sob condições assépticas, é cortada para produzir 20 fragmentos de cerca de 1,0 cm² que são inoculados individualmente com a superfície abaxial para cima em tubos de ensaio contendo 10,0 ml de meio. Os explantes são mantidas em meio de cultura Primária (MCP) durante 60 dias para produzir embriões somáticos em uma média de 14,5 embriões por explante. Os embriões somáticos são transferidos para frascos contendo 30 ml de um meio de germinação e maturação (MGM) onde elas crescem e dão origem a cotilédones nos 120 dias subsequentes. Depois disso, os embriões são verticalmente inoculados em frascos contendo 30 ml de um meio de crescimento e enraizamento (MCE) onde são mantidos por 150 dias para produzir folhas e raízes. Composição do meio: MCP - concentração metade sal de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), 10 mg L⁻¹ tiamina, 1 mg L⁻¹ piridoxina, 1 mg L⁻¹ de ácido nicotínico, 1 mg L⁻¹ glicina, 100 mg L⁻¹ de inositol, 100 mg L⁻¹ de caseína, 400 mg de extrato de L⁻¹ de malte, 20 g L⁻¹ sacarose, 8 g L⁻¹ de ágar, ácido 4,92 uM indole-3-butírico (IBA), 4,92 uM purina (2iP), e 20 uM de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (SANTOS et al., 2013). MGM - mesma composição de MCP, e 2iP sem 2,4-D, com 4,44 uM de 6-benzilaminopurina (BA). MCE - mesma composição da MGM, sem caseína e extrato de malte. Os meios de comunicação têm o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem (120 ° C durante 20 minutos). MCP e MGM culturas são mantidos na escuridão; MCE cultura é mantida no fotoperíodo de 16, a 24 ± 2 ° C. As plântulas (3-8 cm de comprimento) produzido são lavadas em água corrente para eliminar o meio de cultura residual e plantadas em bandejas de polipropileno contendo substrato comercial Plantmax®, em condições de viveiro controlada de 50% de sombreamento, irrigação por aspersão durante 15 minutos, seis vezes por dia, e temperatura de 22-32 ° C, durante 120 dias, após o qual as plântulas ter 6 pares de folhas e estão prontos para ser cultivada em condições de campo.

Sistema de propagação de campo. Com o objetivo de produzir mudas, o basal e porções apicais de mudas, os ramos plagiotrópicos, e 2/3 do limbo foliar são eliminados. As aparas são então individualizados por cortes em bisel, uma 1.0 cm acima da inserção dos ramos plagiotrópicos e outros 4,5 cm abaixo da inserção do par de folhas. As estacas são imersas em uma solução fungicida (2,5 g L L⁻¹ Cuprozeb, 12 g L L⁻¹ Mancozeb, 1 g de L L⁻¹ Penicrom) e, em seguida plantadas a uma profundidade de 2,0 cm em sacos com substrato: 75% (v/v) horizonte do solo (10 cm de profundidade), 25% (v / v) de estrume de gado, 0,06% (v / v) de calcário dolomítico, 0,48% (v/v) de superfosfato, 0,03% (v) cloreto v/ de potássio, 0,012% FTE (MARCOLAN et al., 2009). A partir do 50º dia de cultivo em intervalos de 30 dias adubação nitrogenada é fornecida por uma solução de 33,75 mg.L⁻¹ ureia (12,5 ml por planta). Os sacos são mantidos em um viveiro de plantas onde 90% de umidade é fornecida por irrigação por aspersão durante 10 segundos a cada 10 minutos. Após 30 dias o período entre irrigações é de 20 minutos. Nos primeiros 80 dias, o sombreado é de 50%; depois disso é de 25%. Após 150 dias, as plantas têm 6 pares de folhas completamente expandidas e está pronto para ser cultivado em condições de campo.

Os resultados da produção foram estimados para a produção eficaz de 300.000 plantas por cada sistema de propagação tendo em conta 20% de perdas na embriogênese somática aquando da conversão de embriões em plântulas e durante o processo de aclimatização e 10% de perdas sobre procedimentos de campo sobre a conversão de estacas em plântulas. Os valores foram convertidos de Real (moeda brasileira) para dólar norte-americano em 28 de janeiro de 2015 a uma taxa de US \$ 1,00 a US \$ 2,59.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Por meio da embriogênese somática são necessárias 15 plantas matrizes para fornecer um total de 301.977 mudas aclimatizadas pronto para ser levado às condições de campo. A partir de cada folha são produzidos 20 explantes, cada um dando origem a 14,5 embriões somáticos. Existe uma perda de 22% na conversão destes embriões, que não conseguem converter em plântulas, e de 11% durante a aclimatação das plântulas. Estas perdas representam mais de 30% do número total de embriões somáticos produzidos. A partir de uma única planta matriz 20.131,8 mudas são produzidas.

No sistema de enraizamento de estacas, 1.665 plantas matrizes são necessidade para produzir 300.000 mudas aclimatizadas. Cada planta matriz dá origem a 50 rebentos e cada ramo é dividido em quatro estacas. Durante a conversão dessas estacas em plântulas, há uma perda de 10%. Uma planta matriz origina 180.2 mudas aclimatadas.

O custo de produção de 300.000 plântulas por embriogênese somática é de US \$ 68.553,41, o custo de uma única plântula é de US \$ 0,23. A aclimatação das mudas é responsável por 32,94% do custo total de produção. O

maior custo, da produção de embriões somáticos e aclimação, é o salário dos funcionários, respondendo por 53,52 e 18,61% do custo total de produção, respectivamente. A proporção de custo de componentes de mídia, incluindo reguladores de crescimento, é de 0,92% do custo total de produção. Em condições de campo, para produzir 300.000 mudas por enraizamento de estacas custa US \$ 36.334,71, o custo de uma única plântula sendo US \$ 0,12. O custo é o pagamento dos trabalhadores, o que representa 50,49% do custo total, seguido de depreciação da estufa, o que representa 16,17%.

Em relação ao tempo de produção, que leva 465 dias para produzir 300.000 plântulas por embriogênese somática. A fase mais longa é a conversão dos embriões em plântulas, que leva 150 dias, 32,26% de todo o processo, e leva 120 dias de aclimação, 25,81% do tempo total. Para produzir 300.000 mudas por enraizamento de estacas leva 345 dias, a partir dos quais 52,17% são tomadas para produzir rebentos de plantas matrizes.

Comparando-se os custos dos dois sistemas de propagação, é notável que o custo de uma das plântulas produzidos em condições de campo é de cerca de metade do custo de uma das plântulas obtidas por métodos de cultura de tecidos. De acordo com Verdin Filho et al. (2014), entre as formas de propagação vegetativa, micropropagação é uma técnica rápida e eficiente, que pode ser usado para multiplicar as plantas de café, no entanto, é caro em relação a outras técnicas de multiplicação, visto que ela exige laboratórios especializados, consumíveis caros e treinados trabalhadores.

CONCLUSÕES

Embriogênese somática requer mais tempo e dinheiro do que o enraizamento de estacas para propagar plantas de *Coffea canephora*, todavia a propagação por estaquia requer um grande número de plantas matriz quando comparada ao sistema *in vitro* para iniciar o sistema de produção. Portanto, é notável que a embriogênese somática é mais eficaz apenas quando o número de plantas matrizes é limitado, como no caso do lançamento de novos cultivares.

REFERÊNCIAS

- ARNOLD, S.V., 2008. **Somatic embryogenesis**. In Plant propagation by tissue culture, Eds., George, E.F., M.A. Hall and G.-J. De Klerk. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 335-354.
- CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Café**, Segundo Levantamento, maio de 2014. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/> > Acessado em: 15 de junho de 2014.
- DEO, P.C., A.P. Tyagi, M. Taylor, R. Harding and D. Becker, 2010. Factors affecting somatic embryogenesis and transformation in modern plant breeding. **The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences**, 28: 27-40
- FERRÃO, R. G. et al. **Café conilon**. Vitória: Incaper, 2007. 702p.
- FONSECA, A.F.A., R.G. et al., 2007. Jardins clonais, produção de sementes e mudas. In **Café Conilon**, Eds., Ferrão, R.G., A.F.A. Fonseca, S.M. Bragança, M.A.G. Ferrão, L.H. Muner. Vitória, ES: **Incaper**, pp: 131-159.
- LASHERMES, P., M.-C. Combes, C. Ansaldi, E. Gichuru and S. Noir, 2011. Analysis of alien introgression in coffee tree (*Coffea arabica* L.). **Molecular Breeding**, 27: 223-232.
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG, 1962. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15: 473-497.
- PHILIPPE, L., B. BENOÎT and E. HERVÉ, 2009. Breeding coffee (*Coffea arabica*) for sustainable production. In Breeding plantation crop tree. Eds., Jain, S.M. and P.M. **Priyadarshan**. New York, NY: Springer, pp: 525-543.
- PRESCOTT-ALLEN, R. and C. PRESCOTT-ALLEN, 2013. Genes From the Wild: Using Wild Genetic Resources for Food and Raw Materials. **Taylor & Francis**.
- Santos, M.R.A., M.G.R. Ferreira and V. Sarubo, 2010. Determination of callus growth curve in Conilon coffee. **Revista Caatinga**, 23(1): 133-136.
- SANTOS, M.R.A. et al. Vegetative vigor of Conilon coffee and its potential for *in vitro* callus induction. **Coffee Science**, 8(4): 432-438. 2013.



ISBN: 978-85-61320-14-0

VERDIN FILHO, A.C., et al., Growth and quality of clonal plantlets of Conilon coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) influenced by types of cuttings. **American Journal of Plant Sciences**, 5: 2148-2153, 2014.