

MICROPROPAGAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS

JOSE EDUARDO BRASIL PINTO – UFPA e OSMAR ALVES LAMEIRA
EMBRAPA/CPATU

A micropropagação, indiscutivelmente, tem sido a técnica mais utilizada, pois oferece vantagens de manutenção de genótipos e fenótipos de híbridos, mutações genéticas selecionadas, e excelente estado fitossanitário das plantas obtidas. A propagação em larga escala foi desenvolvida a partir de 1966 (França e Inglaterra), utilizando orquídeas, crisântemo e cravo que dominaram a fase inicial. Atualmente, concentra-se na limpeza clonal e multiplicação de espécies frutíferas (banana, abacaxi, morango), ornamentais, florestais (coníferas) e medicinais, pois possibilita a multiplicação rápida em período de tempo e espaço físico reduzidos.

A cultura de tecido tem como definição básica o cultivo asséptico de qualquer parte viva da planta (explantes) constituído por frações de tecidos, órgãos ou mesmo células em meio de cultura sintético (nutrientes, reguladores de crescimento, etc.) sob condições controladas de temperatura, umidade e luminosidade, para gerar uma nova planta. Esta técnica baseia-se, principalmente, na capacidade de células, tanto animal quanto vegetal de dar origem a novas células e por conseguinte indivíduos, exatamente iguais à célula mãe. Esta propriedade é tida como totipotencialidade.

Entre as tecnologias e técnicas que influenciaram a horticultura nos últimos 25 anos, a micropropagação tem tido o mais significativo impacto no desenvolvimento comercial. Atualmente, são produzidas em torno de 180 a 200 milhões de plântulas/ano via cultura de células e tecidos.

A micropropagação tem sido praticada com êxito em espécies hortícolas (batata, cenoura), ornamentais (orquídea, crisântemo), frutíferas (abacaxi, banana), medicinais (ipeca, espinheira santa) e mais recentemente em espécies lenhosas florestais (pinus, eucalipto).

Algumas vantagens do uso da micropropagação em comparação com os sistemas convencionais de propagação são:

- Incremento acelerado do número de plantas derivadas por genótipo, para obtenção de metabólitos importantes.
- Redução do tempo de multiplicação.
- Possibilidade de multiplicar grandes quantidades de plantas em uma área reduzida a baixos custos.
- Maior controle sobre a sanidade do material propagado.
- Facilidade para transporte do material *in vitro* de um lugar para outro (país ou região).
- Intercâmbio de germoplasma.
- Possibilidade de multiplicar rapidamente uma variedade da qual só existam poucos indivíduos.
- Criação e manutenção de Bancos de Germoplasma.

Para a realização da micropropagação três passos são importantes.

Estabelecimento aséptico de cultivo- o explante é selecionado com base em algumas características da planta doadora e do próprio explante. Quanto a planta doadora deve ser considerado, a idade da planta, estado fitossanitário, aspectos nutricionais, estação do ano, tipo de reprodução predominante, produtividade da planta e estado fisiológico. No explante considerar, tamanho, posição na planta, aspectos visuais de cor, lesões, estado fitossanitário e idade fisiológica.

Multiplicação e cultivo- a multiplicação pode ocorrer de forma direta ou indireta, com ou sem formação de calo respectivamente, conforme as condições de cultivo. A micropropagação através da formação de calos tem sido evitada, tendo em vista que as plantas provenientes de calos podem apresentar diferentes graus de variação que podem ser do tipo epigenético ou corresponder a mutação, bem como a limitação da capacidade morfogênética dos calos quando mantidas em condições indiferenciadas por longos períodos. Sem a formação de calos a multiplicação pode ser pela **diferenciação de brotos adventícios, estímulo de gemas axilares** e por **embriogênese somática**. Os tecidos meristemáticos possuem uma maior estabilidade na regeneração de plântulas do que os tecidos mais diferenciados.

Enraizamento e aclimação para transplante ao solo- o processo de enraizamento nos brotos propagados *in vitro* requer geralmente um meio de cultura com menor concentração de sais. A princípio durante o período de uma a duas semanas são usados os meios básicos tradicionais de Murashige e Skoog, 1962 -MS e Gamborg et al., 1968 -B5, complementados com uma auxina para induzir a formação de raízes. Um fato importante para o enraizamento é a qualidade da microestaca e o seu tamanho ser maior que 1,0 cm. O desenvolvimento foliar também é importante, porque a microestaca com um sistema foliar desenvolvido enraiza mais consistentemente. Posteriormente, para acelerar o crescimento das raízes, ocorre a transferência dos brotos para um meio com a metade da concentração dos sais do meio de cultivo anterior sem regulador de crescimento. Uma relação alta de auxina/citocinina é necessário para iniciar o enraizamento. A aclimação e a transferência das plantas para o solo ainda são fatores que necessitam de certos cuidados indispensáveis para a eficiência do processo como local (casa de vegetação, telado ou câmaras de aclimação), tipo de substrato, controle da temperatura, umidade e luz.

Os métodos que são teoricamente viáveis para a propagação de plantas *in vitro* podem ser obtidos diretamente pela diferenciação de brotos adventícios, estímulo de gemas axilares e embriogênese somática ou indiretamente com a formação de calos.

Diferenciação de brotos adventícios- esta permite a formação de novas estruturas unipolares, o sistema permite a regeneração de uma maior quantidade de brotos que o sistema de gemas axilares.

Os brotos adventícios tem a sua origem na formação do tecido meristemático e a posterior diferenciação de ápices. Para isso os explantes empregados são os meristemas, gemas e segmentos caulinares (apical, nodal e internodal).

A cultura de meristema é uma técnica altamente importante para garantir uma alta produtividade, como na cultura da batata (*Solanum*), alho, batata-doce e morango. A região meristemática é supostamente livre de vírus, devido a falta de sistema vascular (onde o vírus transloca-se dentro da planta) e alta divisão celular. Apesar da baixa ou da inexistência do vírus nessa região, mesmo assim, as plântulas devem passar por um processo de indexação para testar a presença de víruses. Explantes provenientes de gemas e segmentos caulinares, freqüentemente são os mais utilizados. Por serem de maior tamanho facilitam a regeneração de plantas, são utilizados na micropropagação de banana, abacaxi, ipeca, etc.

Estímulo de gemas axilares- nesse processo as condições *in vitro* estimulam o desenvolvimento das gemas axilares permitindo a formação de uma planta por cada gema. A eficiência deste sistema está no número de plantas obtidas determinada pelo número de gemas axilares pré-existentes no inóculo, por outro lado, o sistema apresenta a vantagem de que os indivíduos regenerados mostram uma grande estabilidade genética.

Embriogênese somática- como embriões somáticos, assexuais ou adventícios, tem-se definido para aqueles que originados a partir de células não são produtos de fusão de gametas. São estruturas bipolares com um eixo radial apical e que não possuem conexão vascular com o tecido materno. As estruturas bipolares devem ser também capazes de crescer e formar plantas normais. Por esse processo tem sido propagadas espécies como urucuzeiro, cenoura, tabaco, coníferas, etc. a partir de células do endosperma, hipocótilo, segmentos caulinares e de calos derivados de outros explantes.

Em certos aspectos, os embriões somáticos mantém uma certa semelhança com os embriões zigóticos. Tanto *in vivo* como *in vitro* podem ocorrer algumas anormalidades no desenvolvimento. Do ponto de vista da micropropagação, a embriogênese somática é o sistema mais eficiente, se for considerada a eficiência no número de plantas regeneradas por unidade de tempo. Através deste método pode-se obter uma quantidade quase que ilimitada de plantas, supondo-se que cada célula em suspensão no meio de cultura está diferenciando uma planta. Em coníferas por exemplo, estão se obtendo em um litro de meio de cultura em torno de 50 mil embriões somáticos, aptos para serem regenerados em plântulas.