

Capítulo 11 - Micropropagação da Cana-de-açúcar	257
Capítulo 12 - Micropropagação de Helicônia	287
Capítulo 13 - Micropropagação da Mandioca	323
Capítulo 14 - Micropropagação de Orquídea	351
Capítulo 15 - Micropropagação de Videira	371

Panorama da Micropropagação no Brasil com Ênfase em Flores e Plantas Ornamentais

*Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho
Antonio Fernando Caetano Tombolato
Antonio Anderson de Jesus Rodrigues
Eder de Oliveira Santos
Fernando da Silva*

1. Introdução

Este capítulo tem como objetivo retratar a tendência atual da pesquisa com a cultura de tecidos de flores e plantas ornamentais, no Brasil, destacando as principais espécies estudadas e os métodos mais empregados, bem como a distribuição das instituições envolvidas nas diferentes regiões brasileiras. O levantamento foi efetuado tendo-se como base os três Congressos Brasileiros de Cultura de Tecidos de Plantas realizados nos anos de 2003, 2005 e 2007, em Lavras-MG, Fortaleza-CE e Goiânia-GO, respectivamente. Considerou-se que os trabalhos apresentados nesses eventos, organizados pela Associação Brasileira de Cultura de Tecidos

de Plantas (ABCTP), são representativos do universo da pesquisa nacional na área.

Para fazer este levantamento foram utilizadas as publicações com os trabalhos apresentados nos Congressos, considerando-se aqueles relacionados com a cultura de tecidos de plantas, listando-se: a) as famílias mais estudadas; b) os principais grupos de espécies (floricultura, fruticultura, olericultura, medicinal, condimentar e aromática, oleaginosa, forrageira, silvicultura, grandes culturas e outras); c) a metodologia empregada (micropropagação por organogênese e embriogênese direta ou indireta, cultura de protoplastos, obtenção de haplóides, conservação in vitro de germoplasma, transformação genética e obtenção de metabólitos secundários); d) o estágio da micropropagação estudado (estágio I: seleção de explantes, desinfestação e início da cultura em meio nutritivo sob condições assépticas; estágio II: multiplicação dos propágulos; estágio III: alongamento e enraizamento dos propágulos; e estágio IV: aclimatização dos propágulos); e e) a localização, por região, da instituição onde o trabalho foi conduzido.

2. Importância da Floricultura

A floricultura, aqui definida como as atividades econômicas que envolvem a produção de flores de corte, vasos e jardinagem, é uma alternativa técnica e viável economicamente para a geração de emprego e renda no País, em razão da existência, em todas as regiões, de clima e solos apropriados para o cultivo das espécies comercializadas nos principais mercados. Tem como características marcantes a possibilidade de retorno econômico relativamente rápido em pequenas áreas e ser uma atividade típica da agricultura

familiar. É geradora de postos de trabalho, em média de 10 a 15 pessoas/ha (Hábeis, 2006), contribuindo para a fixação do homem no campo e ocupação das áreas com aptidão agrícola no entorno das grandes cidades.

O mercado interno é caracterizado pelo baixo consumo per capita, pequeno número de compradores frequentes, compras centradas em produtos tradicionais e demanda concentrada em datas especiais e comemorativas. Não obstante, pode e deve ser entendido como um ponto forte, uma vez que as exportações representam uma fatia muito pequena do PIB deste agronegócio. E, embora o consumo interno esteja em torno de U\$7.00 per capita (Beling, 2007), as vendas poderão alcançar, pelo menos, o dobro deste valor se forem superadas restrições econômicas e culturais existentes (Junqueira & Peetz, 2007).

A floricultura é uma atividade agrícola dinâmica e exigente em relação à qualidade do produto pelo mercado consumidor. Tais exigências são ainda mais acentuadas quando se trata de exportação de produtos. Para atender a esse padrão de qualidade, os produtores de flores têm empregado as mais avançadas técnicas de produção e comercialização. Nesse sentido, a propagação in vitro de plantas oferece ao produtor mudas de alto padrão em quantidade suficiente para atender à demanda em curto espaço de tempo (Tombolato & Costa, 1998).

Na Tabela 1 estão listadas as principais espécies produzidas e comercializadas no mercado interno.

Tabela 1. Principais flores e plantas ornamentais consumidas no Brasil, 2005. (Adaptada de Junqueira & Peetz, 2007).

Flores de vaso	Folhagens de vaso	Flores de corte
Crisântemo [<i>Dendranthema grandiflorum</i> (Ramat.) Kitam.]	Ficus (<i>Ficus benjamina</i> L.)	Rosa (<i>Rosa</i> spp.)
Violeta (<i>Saintpaulia ionantha</i> H. Wendl.)	Schefflera (<i>Schefflera arboricola</i> Hayata)	Crisântemo
Calanchoe (<i>Kalanchoe blossfeldiana</i> Poelln.)	Singônio (<i>Syngonium angustatum</i> Schott)	Lírio (<i>Lilium</i> spp.)
Begônia (<i>Begonia</i> spp.)	Samambaia (<i>Nephrolepis</i> spp.)	Gérbera (<i>Gerbera jamesonii</i> Bolus ex Hook.)
Azaleia (<i>Rhododendron</i> spp.)	Tuia (<i>Chamaecyparis</i> spp.)	Tango (<i>Solidago</i> spp.)
Orquídea (<i>Cattleya</i> spp.; <i>Dendrobium</i> spp.; <i>Phalaenopsis</i> spp. e outros gêneros)	Jiboia (<i>Epipremnum pinnatum</i> Schott)	Gladíolo (<i>Gladiolus hortulanus</i> L.H. Bailey)
Bromélia (<i>Vriesea</i> spp.; <i>Neoregelia</i> spp. e outros gêneros)	Filodendro (<i>Philodendron</i> spp.)	Áster (<i>Aster</i> spp.)
Lírio	Comigo-ninguém-pode (<i>Dieffenbachia amoena</i> Hort. ex Gentil)	Gipsófila (<i>Gypsophila</i> spp.)

3. Histórico da Cultura de Tecidos no Mundo

Segundo Rout et al. (2006), a primeira utilização da cultura de tecidos de plantas ornamentais foi na década de 1920, quando sementes de orquídeas foram germinadas, sob condições assépticas, em laboratório, por Knudson, em 1922. Mas, visando à produção de mudas, esta técnica foi inicialmente desenvolvida por Morel e Martins, em 1952. Esses autores demonstraram que plantas de dália infectadas com o vírus do mosaico podiam se tornar livres do patógeno a partir da cultura da gema apical. Entretanto, este método já havia sido usado anteriormente por Ball, em 1946, em plantas de nastúrio e de tremoço.

A equipe de Morel aplicou esta técnica para outras espécies, a exemplo das orquídeas do gênero *Cymbidium*, infectadas pelo vírus do mosaico (Morel, 1960). Ao cultivar as gemas apicais de *Cymbidium*, além da eliminação do vírus, Morel observou a emissão de várias plantas por explante, ao invés de apenas uma, como esperado. Após constatar este mesmo processo em outros gêneros de orquídeas, Morel (1960) propôs que este método fosse denominado, inadequadamente, de "cultura de meristema", como alternativa para a propagação vegetativa de orquídeas. Por este novo método, Morel estimou a obtenção de mais de 1 milhão de plantas por ano. Assim, a técnica de Morel foi rapidamente adotada, como uma prática comercial, por vários propagadores de orquídeas.

Posteriormente, Murashige & Huang (1987) confirmaram a viabilidade desta técnica para outras espécies de flores e plantas ornamentais, como gérberas, samambaias, bromélias e folhagens tropicais. O emprego da técnica, então, se difundiu rapidamente para as flores e plantas ornamentais e, mais lentamente, para as olerícolas, fruteiras, grandes culturas

e essências florestais (Murashige & Huang, 1987). Segundo esses autores, o número de espécies propagadas pela cultura de tecidos em 1987 foi de aproximadamente 1 mil, porém nem todas produzidas em escala comercial.

4. Histórico da Cultura de Tecidos no Brasil

No Brasil, de acordo com Torres & Caldas (1990), o primeiro trabalho com cultura de tecidos de plantas foi conduzido na Universidade de São Paulo (USP), na década de 1950, com orquídeas, e as primeiras equipes de cultura de tecidos estabelecidas na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq), em 1971, e posteriormente na Universidade de Brasília (UNB), em 1972, e na USP (1973-1974). Entre 1975 e 1980 foram criados laboratórios em Campinas-SP, na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e no Instituto Agronômico (IA), e na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em Brasília e no Rio Grande do Sul.

5. Micropropagação de Flores e Plantas Ornamentais

A propagação *in vitro* de flores e plantas ornamentais continua sendo a principal aplicação prática da cultura de tecidos vegetais e a atividade de maior importância nos laboratórios comerciais de micropropagação (George, 1996).

Segundo Tombolato & Costa (1998), dentre as linhas de pesquisa com a micropropagação de flores e plantas ornamentais destacam-se as seguintes: propagação intensiva de novas variedades e espécies, recuperação de plantas livres

de vírus, conservação de germoplasma e suas aplicações em programas de melhoramento genético. Embora em menor frequência, a embriogênese somática também vem sendo estudada em flores e plantas ornamentais, tais como crisântemo, ciclâmen, rosa, begônia, violeta africana e poinsettia (Rout et al., 2006).

A maioria das espécies de flores e plantas ornamentais herbáceas é propagada por cultura de gemas axilares (George, 1996). Entretanto, as espécies das famílias Gesneriaceae (violeta africana e gloxínia) e Begoniaceae (begônia) são mais frequentemente multiplicadas, por organogênese direta, a partir de gemas adventícias regeneradas, principalmente de explantes foliares. Muitas plantas bulbosas, como o amarílis, também são propagadas via gemas adventícias, neste caso utilizando-se como explantes seções do bulbo (geralmente constituído de duas escamas unidas pela placa basal). A organogênese indireta é muito pouco usada como método para micropropagação em larga escala de flores e plantas ornamentais, exceto para o antúrio.

Entretanto, para que a micropropagação tenha êxito, é imperativo que o comportamento das mudas micropropagadas, no campo, seja avaliado. Isto é, as plantas obtidas pela cultura de tecidos devem ser comparadas àquelas produzidas pelos métodos de propagação tradicionalmente utilizados (controle), em diferentes locais e épocas (Prakash, 2006).

6. Principais Espécies de Flores e Plantas Ornamentais Micropropagadas

A lista de espécies propagadas por cultura de tecidos aumentou consideravelmente durante a década de 1980,

sendo a principal contribuição a de flores e plantas ornamentais, seguida das olerícolas, fruteiras, grandes culturas e essências florestais. Em 1974, em um levantamento efetuado por Murashige (1974), foram listadas 150 espécies vegetais micropropagadas. Em levantamento efetuado 4 anos depois, identificou-se 300 espécies (Murashige, 1978). Em 1990, aproximadamente mil espécies já estavam sendo propagadas por cultura de tecidos.

No Brasil, um levantamento realizado em 1995 indicou a existência de um elevado número de laboratórios particulares de micropropagação, os quais multiplicavam espécies ornamentais, principalmente no Estado de São Paulo (Tombolato & Costa, 1998). Existiam cerca de 30 laboratórios em São Paulo, 2 no Rio de Janeiro e 1 no Distrito Federal e nos Estados do Espírito Santo, Maranhão e Pernambuco. As principais espécies micropropagadas, na época, nesses laboratórios particulares, eram: orquídeas (11 laboratórios), *Spathiphyllum* (5 laboratórios), antúrio (5 laboratórios), violeta africana (5 laboratórios) e samambaia (4 laboratórios). Outras espécies também micropropagadas, em menor escala, eram: alstroemeria, amarílis, aráceas, begônia, ciclame, copo-de-leite, cravo, filodendro, gerânio, gérbera, glóxinia, *Gypsophila*, helicônia, lírio, nerine, palmeira, plumbago, statice, *Syngonium* e zingiberáceas.

Na mesma época, as espécies mais estudadas em laboratórios de pesquisa eram: alstroemeria, amarílis, antúrio, áster, bromélias, cravo, crisântemo, estaticice, gérbera, *Gomphrena*, *Gypsophila*, helicônia, lírio, lisiantus, *Nematanthus*, nerine, rosa, samambaias, *Spathiphyllum*, violeta e zingiberáceas.

Segundo Rout et al. (2006), aproximadamente 156 gêneros de flores e plantas ornamentais são propagados por cultura de tecidos, em diferentes laboratórios no mundo.

7. Micropropagação em Larga Escala

Em levantamento efetuado por George & Sherrington (1984), as espécies mais propagadas in vitro, tanto nos Estados Unidos como no mundo, eram as orquídeas, sendo produzidas em 60% dos laboratórios. As folhagens e as outras flores ocupavam o segundo lugar, sendo produzidas em 28% dos laboratórios americanos e em 33% dos laboratórios em todo o mundo. Em terceiro e quarto lugares foram classificadas as samambaias e as espécies lenhosas, respectivamente.

Em 1986, nos Estados Unidos, o singônio era a cultura mais produzida, ficando as samambaias e o lírio-da-paz, respectivamente, em segundo e terceiro lugares, e em quarto lugar, empatadas, as azaleias e as orquídeas. Entretanto, nessa época, a situação era bem diferente na Europa, onde o produto mais produzido era a gérbera e em segundo lugar as samambaias, ficando em terceiro e quarto lugares, respectivamente, os lírios e a violeta-africana, e em quinto lugar, empatados, o ficus e o singônio. Chu & Kurtz (1990) citam que naquela época, na Ásia, incluindo os laboratórios no Japão, Taiwan, Coreia, Malásia, Tailândia e China, eram classificadas em ordem de importância, as folhagens, as orquídeas, a cana-de-açúcar, várias plantas ornamentais e, em quinto lugar, a bananeira.

Segundo Jones (1987), naquele ano existiam aproximadamente 250 laboratórios comerciais de plantas, além de 50 unidades de pesquisa sobre este agronegócio, nos Estados Unidos. As principais espécies produzidas eram singônio, gérbera, lírio-da-paz, samambaia, violeta africana, comigo-ninguém-pode e azaleia.

De acordo com Prakash (2006), em 2003 foram produzidas, no mundo, aproximadamente 922 milhões de plantas, contra apenas 130 milhões, em 1986 (Tabela 2).

Entre 1986 e 1991 ocorreu um aumento médio anual de 30% na produção de plantas por cultura de tecidos. Já em 1993, o aumento foi de 18% em relação ao ano anterior. Em 1997, a produção foi de 800 milhões, um acréscimo de apenas 2% em relação a 1996. A partir de 1998 ocorreu um aumento médio anual de 5% na produção, com exceção do ano de 2001, quando a produção e o consumo de plantas obtidas por cultura de tecidos nos Estados Unidos teve uma redução acentuada.

Tabela 2. Tendência de crescimento no setor de micropropagação de plantas no mundo.

Ano	Milhões de mudas produzidas	Aumento em relação ao ano anterior (%)
1986	130	-
1987	180	38,46
1988	240	33,33
1989	300	25,00
1990	390	30,00
1991	513	31,54
1992	562	9,55
1993	663	17,97
1994	680	2,56
1995	722	6,18
1996	783	8,45
1997	800	2,17
1998	822	2,75
1999	865	5,23
2000	900	4,05
2001	815	9,44
2002	865	6,13
2003	922	6,59

Fonte: Prakash, 2006.

Prakash (2006) também observou que entre os anos 1990-1994 houve um declínio na tendência da indústria da micropropagação na Europa, principalmente por causa da transferência de parte de sua produção para laboratórios localizados notadamente na Índia.

Uma análise da Tabela 3 mostra um aumento de 14% nos países asiáticos, principalmente devido à entrada da China neste agronegócio após 1995. Da mesma forma, houve um aumento de 30 milhões de plantas nas Américas Central e do Sul durante os anos 1998-1999, em decorrência da produção de mudas por cultura de tecidos em Cuba, nas suas novas biofábricas.

Tabela 3. Comparação da indústria da micropropagação de plantas em diferentes regiões do mundo.

Região	Milhões de plantas produzidas nos períodos		
	1995-1996	1998-1999	2003-2004
Países Europeus	160	179	130
Países da Ásia	135	155	240
EUA e Canadá	128	110	100
Austrália e Nova Zelândia	65	85	86
Israel e Oriente Médio	78	92	135
Américas Central e do Sul	125	155	155
África	42	46	76
Total	733	822	922

Fonte: Prakash, 2006.

8. Tendência Atual da Pesquisa com a Cultura de Tecidos de Flores e Plantas Ornamentais no Brasil

O objetivo deste levantamento é dar uma ideia dos trabalhos apresentados, nos três Congressos realizados, considerando-se àqueles envolvendo flores e plantas ornamentais e levando-se em conta os seguintes itens: famílias mais estudadas, principais grupos de espécies, sistemas e estágios mais empregados de micropropagação e localização das instituições de pesquisa nas quais foram conduzidos os trabalhos.

8.1. Análise por Famílias

Nos três eventos foram apresentados trabalhos com 35 famílias diferentes de flores e plantas ornamentais, com destaque para as orquídeas, que lideraram o esforço de pesquisa com 24,24% dos trabalhos (Fig. 1), confirmando a tendência mundial de ser a família mais estudada em micropropagação. Nos três eventos foram apresentados 88 trabalhos e estudados 15 gêneros da família Orchidaceae. Os gêneros mais citados foram *Cattleya* (51,14%) e *Laelia* (11,36%). Dos demais, *Oncidium* foi mencionado em 5 trabalhos, *Brassocattleya*, *Epidendrum* e *Laeliocattleya* em 4 trabalhos, *Encyclia*, *Brassavola*, *Cymbidium*, *Arundina*, *Bifrenaria*, *Catasetum* e *Dendrobium* em 2 trabalhos, e *Psychomorphis* e *Caularthron* em apenas 1 trabalho.

Em segundo lugar estão as bromélias, com média de 22,31% das atividades de pesquisa expostas nos três eventos. Foram apresentados 81 trabalhos e estudados 13

gêneros da família Bromeliaceae, sendo os gêneros mais citados: *Ananas*, representado pelos abacaxis ornamentais (34,57%), *Vriesea* (20,99%) e *Orthophytum* (13,58%). Dos demais, *Nidularium* e *Alcantarea* foram citados em 5 trabalhos, *Neoregelia* e *Aechmea* em 4 trabalhos, *Dyckia* em 2 trabalhos e *Racinea*, *Wittrockia*, *Encholirium*, *Pitcaimia* e *Achanthostachys* em apenas 1 trabalho. Somente essas duas famílias, Orchidaceae e Bromeliaceae, representaram quase a metade dos trabalhos apresentados com cultura de tecidos de flores e plantas ornamentais, respectivamente, 48,57%, 44,19% e 47,29% em 2003, 2005 e 2007.

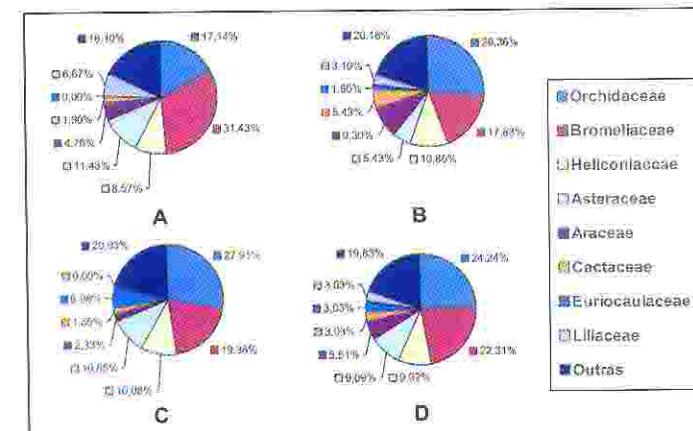


Fig. 1. Distribuição percentual das principais famílias de flores e plantas ornamentais estudadas nos trabalhos apresentados nos três Congressos Brasileiros de Cultura de Tecidos de Plantas (CBCTP): 1º CBCTP, 2003 (A); 2º CBCTP, 2005 (B); 3º CBCTP, 2007 (C); total dos três eventos (D).

Em terceiro lugar estão as helicônias, representadas por 9,92% dos trabalhos apresentados nos três eventos, seguindo-se com valores muito próximos as asteráceas, com 9,09%. Nos três eventos, na família Heliconiaceae, foram apresentados 36 trabalhos e estudadas oito espécies, relacionadas a seguir em ordem decrescente no número de

trabalhos expostos: *Heliconia rostrata* (12), *H. bihai* (11), *Heliconia* sp. (4), *H. chartacea* (3), *H. psittacorum* (2) e com apenas 1 artigo, *H. hirsuta*, *H. librata*, *H. stricta* e *H. champneiana*. Para a família Asteraceae foram apresentados um total de 33 trabalhos e estudadas apenas três espécies: *Dendranthema grandifolia*, *Gerbera jamesonii* e *Chrysanthemum coronarium*, com 18, 14 e 1 trabalhos, respectivamente.

Em quinto lugar, as aráceas foram representadas por 20 trabalhos (5,51%), sendo a maioria do gênero *Anthurium*: *A. andraeanum* (9 trabalhos), *A. coriaceum* (2 trabalhos) e *Anthurium* sp. (1 trabalho). Além dessas, outras espécies contempladas com estudos foram *Zantheschia aethipica* (3 trabalhos), *Zantheschia* sp. (3 trabalhos) e com apenas 1 trabalho *Aglaonema pseudobracteatum* e *Syngonium* sp.

As famílias Liliaceae, Cactaceae e Euriocaulaceae, com 11 trabalhos cada uma, situaram-se em sexto lugar na classificação geral, em termos de trabalhos apresentados nos eventos. Na família Liliaceae, os principais gêneros estudados foram *Agapanthus*, *Hemerocallis* e *Phormium*, com 3 trabalhos cada, e *Lilium* com 2 trabalhos. Na família Cactaceae, os gêneros mais estudados foram *Cereus* (5 trabalhos), *Melocactus* e *Pilosocereus*, com 2 trabalhos cada, e *Discocactus* e *Schlumbergera* com apenas 1 trabalho. E, na família Euriocaulaceae, duas espécies foram estudadas: *Syngonanthus mucugensis* (9 artigos) e *S. curralensis* (2 trabalhos).

Considerando-se apenas as espécies tropicais, verificou-se que as famílias Orchidaceae, Bromeliaceae, Heliconiaceae, Araceae e Cactaceae representam um total de 65,01% dos trabalhos apresentados, nos três eventos. As flores tropicais compõem um grupo de plantas ornamentais que tem apresentado significativo aumento no interesse do seu cultivo,

bem como na sua inclusão, nos últimos anos, em estudos desenvolvidos tanto em instituições de pesquisa, a exemplo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), como de ensino.

Das famílias restantes, Gesneriaceae e Rosaceae foram estudadas em 8 trabalhos, Arecaceae em 7, Bignoniaceae em 6, Cayophyllaceae em 5, Plumbaginaceae em 4, Amaryllidaceae, Fabaceae, Macgraviaceae e Zingiberaceae em 3, Acanthaceae, Costaceae, Dryopteridaceae, Geraneaceae e Iridaceae em 2, e Balsaminaceae, Capparidaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Lauraceae, Oxalidaceae, Poaceae, Portulacaceae, Rutaceae, Scrophulariaceae, Strelitziaceae e Velloziaceae em apenas 1 artigo.

8.2. Análise por Grupos de Espécies

Para a identificação e estratificação do grupo da espécie estudada, considerou-se a ênfase dada no próprio trabalho. Nos casos em que não foi possível identificar o grupo da espécie na publicação, foi feita uma revisão para a constatação do uso mais importante da espécie. Por esta metodologia, verificou-se que o grupo de espécies com uso ornamental esteve presente em 34,47% dos trabalhos apresentados nos três eventos (Fig. 2). As flores e plantas ornamentais formam, por excelência, um grupo de plantas em que a aplicação da micropropagação é significativa, pela repercussão direta na economia (Bosa et al., 2003), devido principalmente ao alto valor agregado ao produto final.

Em segundo e terceiro lugares estão as fruteiras e o grupo das espécies com propriedades medicinais, condimentares e aromáticas, com médias gerais de 24,88% e 18,23%, respectivamente. No Congresso realizado em 2003

foram apresentados números muito semelhantes de trabalhos com estes dois grupos de plantas, sendo 78 para as medicinais, condimentares e aromáticas e 73 para as fruteiras. Nos dois eventos posteriores, verificou-se redução do número de trabalhos apresentados com o grupo das fruteiras, com o total de 45 apurado no ano de 2007, tendo sido praticamente a metade em relação a 2003 (78). A mesma tendência de redução no número de trabalhos apresentados foi constatada com as espécies olerícolas, que ocuparam o quarto lugar no esforço de pesquisa, com média geral de 5,41%, sendo que em 2003 e 2005 foram apresentados, em média, 23 trabalhos, contra apenas 9 trabalhos, no ano de 2007.

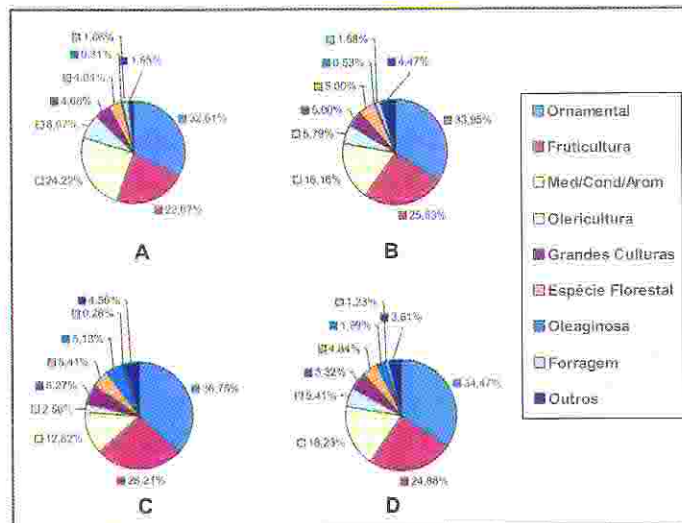


Fig. 2. Distribuição percentual dos grupos de espécies estudadas nos trabalhos apresentados nos três Congressos Brasileiros de Cultura de Tecidos de Plantas (CBCTP): 1º CBCTP, 2003 (A); 2º CBCTP, 2005 (B); 3º CBCTP, 2007 (C); total dos três eventos (D).

O grupo das grandes culturas (café, cana-de-açúcar, algodão, milho e outras), com 5,32% dos trabalhos apresentados, ocupou o quinto lugar. E, em sexto lugar, as

espécies florestais, com 4,84%, cujo uso principal é o reflorestamento para extração de madeira e de celulose. A espécie mais estudada desta classe foi o eucalipto.

Apesar de terem sido representadas por apenas 1,99% dos trabalhos apresentados, as oleaginosas constituem um grupo que merece destaque, em razão da importância atual relacionada com a demanda global dos biocombustíveis. Tanto é que, em 2007, o número de trabalhos (18) aumentou significativamente em relação aos eventos de 2003 e 2005, nos quais foram apresentados, respectivamente, apenas 1 e 2 trabalhos. Este aumento está relacionado com as pesquisas voltadas para as culturas da mamona, pinhão manso e dendê, espécies consideradas prioritárias para a produção de biodiesel no Brasil.

Ao contrário das oleaginosas, as forrageiras tiveram redução no número de trabalhos apresentados. Tanto em 2003 quanto em 2005 foram 6 trabalhos em cada evento, e em 2007, apenas 1. Como forragens foram consideradas as culturas do capim braquiária, sorgo e palma forrageira.

As espécies não incluídas nos oito grupos principais representaram, em média, 3,61% dos trabalhos. Neste total também foram incluídos os estudos que tratavam de espécies sem a identificação de um uso principal, bem como os que enfocavam aspectos gerais da cultura de tecidos, como assepsia de laboratório e esterilização de meio de cultura.

8.3. Análise por Estágios da Micropropagação

Os trabalhos também foram ordenados de acordo com os estágios de desenvolvimento estudados no processo de propagação *in vitro*, assim considerados: estágio I - seleção, desinfestação e introdução de explantes em meio nutritivo,

sob condições assépticas; estágio II × multiplicação dos propágulos mediante sucessivas subculturas em meio próprio para a multiplicação; estágio III - transferência das partes aéreas produzidas para meio de alongamento e enraizamento; e estágio IV - transplântio das plantas obtidas para substrato ou solo. Como essa sequência não é necessariamente seguida, alguns trabalhos apresentaram alterações conforme as peculiaridades das espécies estudadas.

Por este ordenamento, verifica-se que a maioria dos trabalhos está relacionada com o estágio I, média de 51,79% (Fig. 3), reforçando que um dos obstáculos inevitáveis ao uso da cultura de tecidos vegetais é a assepsia do explante, principalmente quando este é proveniente do campo. O processo de desinfestação, primeira etapa para o estabelecimento de uma cultura *in vitro*, segundo Souza et al. (2006b), implica na eliminação dos microrganismos superficiais do explante, a fim de evitar contaminações extremamente prejudiciais na introdução, incubação e manipulação do material. Como algumas etapas podem se tornar limitantes para o estabelecimento de um protocolo de micropropagação de uma determinada espécie, é fundamental que sejam conduzidas com muito critério, especialmente pelo fato das culturas se contaminarem principalmente por fungos e bactérias. Para esses autores, a presença de bactérias endógenas dificulta sobremaneira o estabelecimento de protocolos de micropropagação de muitas espécies.

O estágio II, que é a fase de multiplicação, foi alvo de 21,21% dos trabalhos encontrados neste estudo. Se forem considerados apenas os trabalhos que tratam dos dois primeiros estágios, tem-se um total de 73,00% dos esforços de pesquisa em cultura de tecidos, no Brasil, nos últimos seis anos.

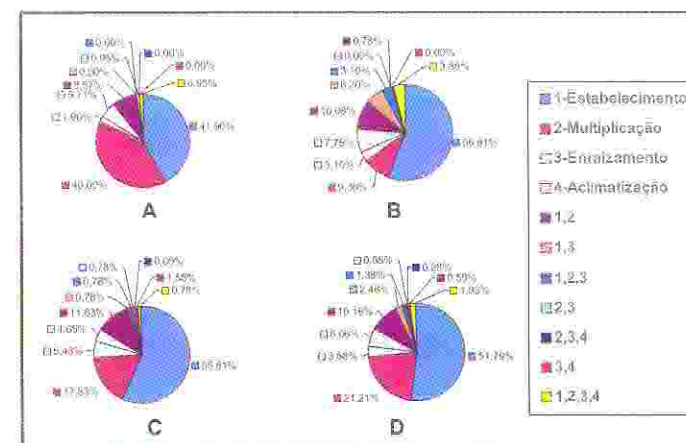


Fig. 3. Distribuição percentual dos estágios da micropropagação estudados nos trabalhos apresentados nos três Congressos Brasileiros de Cultura de Tecidos de Plantas (CBCTP): 1º CBCTP, 2003 (A); 2º CBCTP, 2005 (B); 3º CBCTP, 2007 (C); total dos três eventos (D).

O estágio III isoladamente foi alvo de 3,58% dos trabalhos realizados. A possível explicação está no fato de se tratar de uma fase que pode ser simplificada em algumas espécies com a eliminação da etapa de enraizamento *in vitro*, manipulando-se as partes aéreas como microestacas, as quais podem enraizar diretamente no substrato de transplântio. Ou seja, o enraizamento é uma fase que pode ser realizada *in vitro* ou *in vivo*. Além disso, o enraizamento de espécies herbáceas, na maioria das culturas estudadas, é geralmente mais fácil quando comparado com o de espécies lenhosas (Grattapaglia & Machado, 1998).

Finalmente, 6,06% dos trabalhos focaram o estágio IV, isto é, a aclimatização das mudas obtidas *in vitro*. Esta etapa envolve a transferência da planta da condição *in vitro* para uma casa de vegetação, onde é submetida a uma fase de aclimatização e endurecimento. (Grattapaglia & Machado, 1998) afirmam que existem relativamente poucos trabalhos

que relatam os detalhes do procedimento de transplante e de aclimatização, as dificuldades e as soluções encontradas durante este processo. Segundo Souza et al. (2006a) a importância da aclimatização é tal que pode significar a limitação de todo o processo de multiplicação *in vitro* de plantas.

Apenas 7 (1,93%) dos 363 trabalhos apresentados, nos três eventos, tratam de todos os quatro estágios isto é, abordando todas as etapas necessárias para a produção de mudas micropropagadas.

8.4. Análise por Sistemas de Micropropagação

Seguindo a tendência observada nos trabalhos apresentados, considerou-se como micropropagação, em mais de 90% do total (Fig. 4), a multiplicação por proliferação de gemas axilares e a indução de gemas adventícias mediante organogênese direta ou indireta. Essa tendência está de acordo com a afirmação de Grattapaglia & Machado (1998) de que a multiplicação via proliferação de gemas axilares abrange a maioria dos sistemas de micropropagação. Seguem-se, com média de 3,86%, os trabalhos que empregaram a multiplicação por embriogênese somática. Isto se deve, talvez, ao fato deste sistema ainda apresentar algumas limitações que têm dificultado sua aplicação como um método de micropropagação. A primeira e maior delas diz respeito à necessidade de obtenção de um sistema de embriogênese reproduzível em larga escala (Grattapaglia & Machado, 1998). Esses autores ainda apontam como outros entraves a variabilidade genética indesejável, às vezes introduzida pelo processo, e a perda da capacidade embriogênica das células. Por estas razões, a cultura de partes aéreas ainda é preferida

para a micropropagação. Por se reproduzir *in vitro* um fenômeno natural, o sistema de micropropagação por gemas axilares é mais facilmente controlado e apresenta uma fidelidade genética muito alta.

A cultura de células haplóides ocupa o terceiro lugar, com média de 1,70%. A importância deste sistema está na facilidade da análise genética, eliminando-se as complexidades do estado heterozigoto, representando para os programas de melhoramento economia de tempo para obtenção de novas linhagens (Moraes-Fernandes, 1990).

Nos três eventos, a variação somaclonal foi abordada em apenas 3 trabalhos e o uso de irradiação em 2 trabalhos. Já a conservação *in vitro* de germoplasma, a indução de floração *in vitro*, o cultivo de células em suspensão, o uso de sementes sintéticas e o controle de contaminações com óleos essenciais foram técnicas consideradas em apenas 1 trabalho.

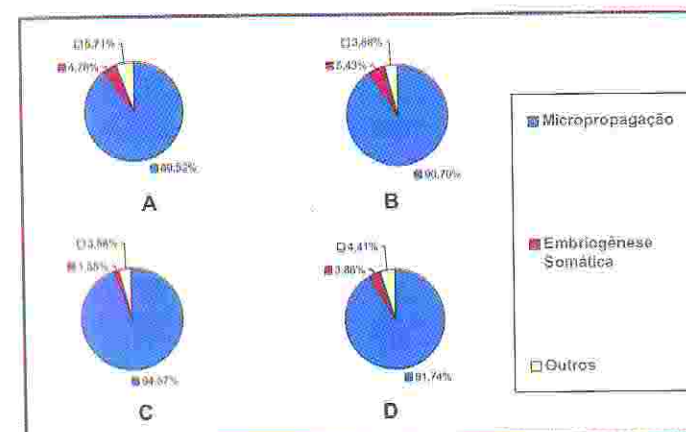


Fig. 4. Distribuição percentual dos sistemas de produção *in vitro* de mudas estudados nos trabalhos apresentados nos três Congressos Brasileiros de Cultura de Tecidos de Plantas (CBCTP): 1º CBCTP, 2003 (A); 2º CBCTP, 2005 (B); 3º CBCTP, 2007 (C); total dos três eventos (D).

8.5. Análise por Localização das Instituições de Pesquisa

Neste estudo também foi identificada a instituição, pública ou privada, de ensino ou de pesquisa, onde o trabalho foi conduzido. Quando esta informação não constava no próprio trabalho, considerou-se a instituição onde a maioria dos autores estão associados e, quando o número de instituições e de autores coincidia, foi solicitado do autor principal, informação que permitisse identificar o local em que o trabalho foi realizado. Entretanto, é importante salientar que houve alguns casos em que os trabalhos foram conduzidos em instituições onde os autores já não estavam mais lotados.

A maioria dos trabalhos foi conduzida no Estado de Minas Gerais (26,18%), com média de 32 trabalhos por evento, seguido da Bahia, com 14,87% do total. Esse último Estado apresentou um acréscimo significativo entre o primeiro e o terceiro eventos. De apenas 2 resumos em 2003, passou para 16 em 2005 e alcançou 36 trabalhos em 2007, isto é, mais do dobro do evento anterior. Em terceiro lugar ficou São Paulo, com 10,74% dos artigos expostos. Este Estado apresentou uma tendência de diminuição no número de trabalhos, com uma redução de 20 artigos em 2003 para apenas 5 em 2007. Em quarto e quinto lugares ficaram os Estados do Ceará e de Santa Catarina, respectivamente.

É importante salientar que os Estados do Paraná e de Pernambuco apresentaram, ao longo dos três eventos, aumento no número de trabalhos apresentados. Já os Estados de Alagoas, Amapá, Paraíba, Roraima e Tocantins não contam com instituições representativas com apresentação de trabalhos de pesquisa de cultura de plantas, pelo menos nos três eventos que foram considerados para compor este capítulo.

Com relação à localização das Instituições por Região (Fig. 5), verifica-se em ordem decrescente a seguinte situação: Sudeste (41,87%), Nordeste (32,78%), Sul (16,25%), Centro-Oeste (6,61%) e Norte (2,48%). De forma geral, o número de trabalhos apresentados, oriundos da Região Sudeste apresenta uma redução, ao longo dos eventos, e a Região Nordeste, o inverso.

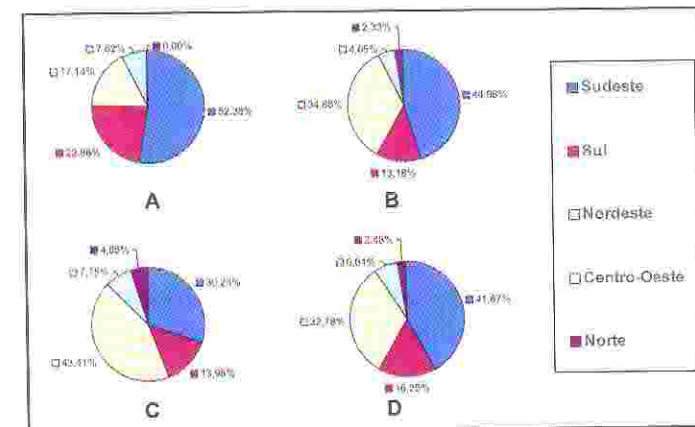


Fig. 5. Distribuição percentual da localização, por região, da instituição de pesquisa onde os trabalhos apresentados nos três Congressos Brasileiros de Cultura de Tecidos de Plantas (CBCTP) foram conduzidos: 1º CBCTP, 2003 (A); 2º CBCTP, 2005 (B); 3º CBCTP, 2007 (C); total dos três eventos (D).

9. Principais Fatores Limitantes da Micropropagação de Flores e Plantas Ornamentais

O desenvolvimento do setor de micropropagação de flores e plantas ornamentais, não só no Brasil, mas de uma forma global, vem ressentindo a falta e/ou o ajuste de inúmeros fatores, dos quais podem ser destacados:

- 1) Protocolo adequado para cada espécie/variedade - fonte de explante, meio de cultura e condições ambientais de cultivo adequadas.
- 2) Formação de pessoal - carência de treinamento específico e mão-de-obra especializada.
- 3) Infraestrutura, equipamentos e outros materiais específicos.
- 4) Recuperação de plantas livres de vírus - técnicas práticas de indexação e limpeza de vírus nas diversas espécies.
- 5) Certificação das mudas - caracterização adequada quanto à fidelidade genética e ausência de patógenos.
- 6) Introdução de novas variedades - riscos de introdução de patógenos, excesso de burocracia para a introdução oficial de material vegetal no País, indefinição da normatização da Lei de Proteção de Cultivares (Lei 9.456 de 1997).
- 7) Normas de comercialização das mudas in vitro - unidade de venda, padronização, preço mínimo. No Brasil, o controle de qualidade tem como iniciativa a normatização do relacionamento da Embrapa com as empresas produtoras de mudas micropropagadas. O diretor-presidente da Embrapa aprovou a resolução normativa número 11, que trata da diretriz sobre o processo de produção e comercialização de mudas micropropagadas (Teixeira, 2005).
- 8) Custo das mudas - o preço unitário da muda produzida por micropropagação ainda, muitas das vezes, é mais alto do que o daquelas obtidas pelos métodos convencionais de propagação, principalmente por causa da mão-de-obra especializada que absorve aproximadamente 70% do custo (Pierik, 1988).
- 9) Tamanho da muda - as mudas obtidas são inicialmente muito pequenas, necessitando de cuidados especiais no seu manuseio.

- 10) Ocorrência de variantes somaclonais - ainda é alta.
- 11) Expansão da tecnologia - dificuldades para estender à uma maior gama de espécies.
- 12) Controle da contaminação - manutenção do índice abaixo de 5%.
- 13) Demanda de produtos - natureza sazonal, períodos de picos e falta de estoque.
- 14) Gestão dos recursos humanos - aspectos práticos para o gerenciamento administrativo de pessoal.
- 15) Aclimatização - perdas de mudas.
- 16) Problemas atribuídos a inadequações inerentes ao próprio método de cultura de tecidos de plantas - tais como: a) a excessiva vedação dos frascos de cultivo para evitar contaminações acaba dificultando e/ou impedindo trocas gasosas, acarretando acúmulo, em altos níveis, de vários gases (tais como, gás carbônico, etileno e etanol). O etileno e o etanol afetam a morfogênese, suprimindo a embriogênese e a organogênese; b) a excreção, pelos tecidos cultivados, no meio de cultura, de uma variedade de metabólitos, alguns dos quais são tóxicos; as excreções geralmente passam despercebidas, a menos que causem modificações na coloração do meio de cultura e/ou nos tecidos ou resultem na falta de crescimento do explante; e c) os ingredientes do meio de cultura nem sempre possuem pureza adequada, sendo os problemas mais frequentes relacionados com as fontes de água, açúcar e agente gelificante.
- 17) Desconhecimento de novas moléculas com função hormonal - obriga o uso de extratos orgânicos de composição desconhecida o que implica na obtenção de resultados incertos.

18) Falta de recursos para pesquisa - limita a produção de dados que permitam aos laboratórios garantir a qualidade da muda e a exclusividade de produção de determinada espécie, muitas vezes em função da pequena importância da cultura ou das pequenas quantidades solicitadas.

Por sua vez, Jones (1987) enfatiza que os principais problemas deste agronegócio são: a formulação das estratégias de negócio, a expansão das linhas de produtos e a redução do custo da unidade. Já o controle da contaminação, o desenvolvimento de procedimentos adequados de transporte, a gestão dos recursos humanos e o planejamento da produção, ele considera como problemas secundários para a produção em larga escala de mudas micropropagadas.

10. Considerações Finais

As flores e plantas ornamentais são produzidas principalmente por valores estéticos. Sendo assim, a melhoria dos atributos de qualidade, tais como tipo de folha, cor da inflorescência, longevidade e conservação pós-colheita, forma e arquitetura da planta, e a criação de novas variações, são objetivos de ordem econômica importantes a serem alcançados. O sucesso da aplicação prática das técnicas de propagação *in vitro* de flores e de plantas ornamentais vem sendo cada vez mais empregado para fins comerciais, uma vez que o setor da floricultura demanda grande número de mudas uniformes e de alta qualidade genética e fitossanitária durante todo o ano. Além de mudas das espécies utilizadas como flor de corte e plantas envasadas, a demanda também tem sido crescente para as plantas usadas como folhagem, forração e paisagismo. Muitos laboratórios comerciais e instituições de pesquisa e de ensino, no mundo, empregam o sistema do

cultivo *in vitro* para multiplicação de plantas, conservação de germoplasma, eliminação de patógenos, manipulações genéticas e produção de metabólitos secundários. Anualmente, milhões de mudas de flores e plantas ornamentais são rotineiramente produzidas *in vitro*. O grande potencial da micropropagação para a multiplicação de plantas, em larga escala, pode ser alcançado com a aplicação de técnicas de cultura de tecidos de baixo custo. Isto é, com a adoção de práticas adequadas, uso apropriado de equipamentos e de recursos, utilização de meios de cultura orgânicos e de práticas ambientalmente corretas, visando à redução do custo unitário do micropropágulo, sem comprometer a qualidade do produto.

Independentemente do tipo de produto e da demanda de mercado, interno ou externo, a ampliação da linha de produtos, a redução dos custos de produção e a maior interação entre todos os elos da cadeia produtiva é fundamental para expansão do setor. Além disso, a indústria da cultura de tecidos de vegetais necessita utilizar com maior frequência tecnologias mais avançadas, tais como a indexação viral, o uso de biorreatores, a mecanização de algumas etapas, a micropropagação fotoautotrófica (utilização da luz solar) e a produção de sementes sintéticas.

A utilização de biorreatores pode contribuir na redução destes custos, desde que cuidados especiais sejam adotados visando a prevenção da contaminação. Outras técnicas, tais como a embriogênese somática, o desenvolvimento de sementes sintéticas, a criopreservação, a indução de mutações e a transformação genética devem ser pesquisadas mais profundamente, para sua ampla utilização.

Enfim, a micropropagação é uma poderosa ferramenta que pode contribuir bastante para o setor de flores e plantas ornamentais. Entretanto, requer criatividade e planejamento para garantir seu crescimento e futuros sucessos.

11. Referências Bibliográficas

BELING, R. R. **Anuário estatístico das flores 2007**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2007. 112 p.

BOSA, N.; CALVETE, E. O.; NIENOW, A. A.; SUZIN, M. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 2, p. 207-210, 2003.

CHU, I. Y. E.; KURTZ, S. L. Commercialization of plant micropropagation. In: AMMIRATO, P. V.; EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Handbook of plant cell culture: ornamental species**. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990. p. 126-164.

CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA-FAEPE, 2003. 462 p.

CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45.; CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 15.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2., 2005, Fortaleza. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 2, 2005. Suplemento. 694 p.

CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 16.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 3.; SIMPÓSIO DE PLANTAS ORNAMENTAIS NATIVAS, 1., 2007, Goiânia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 13, 2007. Suplemento. 2.193 p.

GEORGE, E. F. Micropropagation in practice. In: GEORGE, E. F. (Ed.). **Plant propagation by tissue culture**. Part 2. In practice. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. v. 2, p. 834-1231.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. Plant propagation and micropropagation. In: GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. (Ed.). **Plant propagation by tissue cultured: handbook and directory of commercial laboratories**. Eversley: Exegetics, 1984. p. 39-72.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF; Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq, 1998. p. 183-260.

HÁBEIS mãos. **Anuário Brasileiro das Flores 2006**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2006. p. 77.

JONES, J. B. Commercial plant tissue culture in the United States. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 212, p. 639-643, 1987.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. da S. Produção y comercialización de plantas ornamentales en Brasil. **Horticultura Internacional**, Reus, n. 55, p. 16-19, 2007. Disponível em: <http://www.hortica.com.br/artigos/Plantas_Ornamentales_en_Brasil.pdf>. Acesso em: 04 jul. 2007.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Obtenção de plantas haplóides através da cultura de anteras. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-CNPq, 1990. p. 311-332.

MOREL, G. Producing virus-free *Cymbidium*. **American Orchid Society Bulletin**, West Palm Beach, v. 29, p. 495-497, 1960.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 25, p. 135-166, 1974.

MURASHIGE, T. The impact of plant tissue culture on agriculture. In: THORPE, T. A. (Ed.). **Frontiers of plant tissue culture**. Calgary: University of Calgary, 1978. p. 15-26.

MURASHIGE, T.; HUANG, L. C. Cloning plants by tissue culture: early years, current status and future prospects. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 212, p. 35-42, 1987.

PIERIK, R. L. M. Handicaps for the large scale commercial application of micropropagation. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 230, p. 63-71, 1988.

PRAKASH, J. Micropropagation industry in India: biology and business. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 725, p. 293-300, 2006.

ROUT, G. R.; MOHAPATRA, A.; JAIN, S. M. Tissue culture of ornamental pot plant: a critical review on present scenario and future prospects. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 24, p. 531-560, 2006.

SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. de C.; SILVA NETO, H. P. da; Aclimatização. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006a. p. 131-141.

SOUZA, F. V. D.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. da S.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; COSTA, M. A. P. de C. Micropropagação. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006b. p. 38-52.

TEIXEIRA, J. B. Diretriz da Embrapa sobre o processo de produção e comercialização de mudas micropropagadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 668, 2005. Suplemento.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico, 1998. 72 p. (Instituto Agronômico, Boletim Técnico, 174).

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. Histórico da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP: Embrapa-CNPq, 1990. p. 15-18.

Indexação de Plantas para Víruses

Paulo Ernesto Meissner Filho

1. Introdução

No mundo há milhares de viroses descritas, cada uma possuindo uma gama de hospedeiros específica. A sintomatologia produzida também varia bastante, dependendo do vírus presente, da planta infectada e das condições ambiente (Bos, 1978; Matthews, 1991).

No Brasil em diversas fruteiras tropicais, citros e mandioca, já se constatou a ocorrência de várias viroses. No abacaxi, está presente o vírus associado com a murcha do abacaxi (*Pineapple mealybug wilt associated virus*, PMWaV) (Sanchez et al., 2000). Em banana, o vírus do mosaico do pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) e o vírus das estrias da bananeira (*Banana streak virus*, BSV) (Meissner Filho & Briosso, 2000). Em mamão, o vírus do amarelo letal do mamoeiro (*Papaya lethal yellowing virus*, PLYV), o vírus da mancha anelar do mamoeiro (*Papaya ringspot virus*, PRSV) e o vírus da