

A Cultura de Tecidos na Agricultura

Camilo Alves(1); Josimar Rodrigues Oliveira(1); Érika Soares Reis(2)*; Ricardo Monteiro Corrêa(2); Jonatha Souza(1); Júlio César de Oliveira Silva(1); Júlio César Ribeiro de Paula(1); Lucas Henrique Fernandes Rodrigues(1); Marco Aurélio de Souza(1); Marcelo Ribeiro de Mendonça(1);

(1) Centro Federal de Educação Tecnológica de Bambuí – CEFET-Bambuí; (2) Professores Orientadores – CEFET-Bambuí

RESUMO:

A cultura de tecidos vegetais é uma ferramenta com alto potencial de aplicação no melhoramento vegetal. Ela pode ser utilizada desde a multiplicação de material genético, para a troca e a avaliação de germoplasma, até a produção de mudas livres de vírus. Nessa técnica pequenos fragmentos de tecido vivo, chamados explantes, são isolados de um organismo vegetal, desinfestados e cultivados assepticamente por períodos indefinidos em um meio de cultura apropriado. O objetivo é obter nova planta idêntica à original, ou seja, realizar uma clonagem vegetal de modo a obter um novo indivíduo, mantendo-se o genótipo idêntico ao do ancestral comum. Assim o objetivo do presente trabalho será apresentar à comunidade acadêmica do CEFET-Bambuí a técnica de cultura de tecidos, desconhecida por várias pessoas e de grande importância para a agricultura.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*, clones, biotecnologia, melhoramento genético.

1. INTRODUÇÃO

O mundo da ciência é fascinante e repleto de inovações e progressos. Nesse aspecto a biotecnologia de plantas tem contribuído de forma relevante para o setor produtivo a partir do impulso, na última década, às pesquisas para a produção de plantas livres de vírus, para a propagação clonal e o desenvolvimento de genótipos resistentes estresses biótico e abióticos via engenharia genética (TORRES et al, 1998).

A cultura de tecidos é uma excelente ferramenta para clonar plantas em escala comercial, além de colaborar na realização de estudos de transformação genética e conservação de espécies vegetais. Permite ainda aperfeiçoar a interação entre fatores abióticos (nutricionais, luminosos, temperatura etc) e bióticos (hormonais e genéticos), resultando em plantas saudáveis, vigorosas e geneticamente superiores, que podem ser multiplicadas massivamente.

A técnica de cultura de tecidos pode ser empregada para a multiplicação de espécies de difícil

propagação, como por exemplo, algumas espécies nativas do Cerrado. Outro exemplo de grande importância é a limpeza clonal, por meio da qual é possível, em algumas espécies, como abacaxi, morango, citrus, batata e outros, a produção de mudas livres de vírus (FERREIRA et al, 1998). Essa técnica consiste em cultivar meristemas e induzir a formação de material propagativo geneticamente idênticos aos parentais.

Dessa forma o objetivo do presente trabalho é apresentar à comunidade acadêmica do CEFET-Bambuí a técnica de cultura de tecidos, listando sua importância e características práticas aplicáveis às ciências agrárias.

2. PRINCÍPIO DA CULTURA DE TECIDOS

A cultura se baseia na teoria da totipotência onde os seres vivos tem a capacidade de regenerar organismos inteiros, idênticos à matriz doadora, a partir de células únicas.

* Endereço para correspondência: erikareis@cefetbambui.edu.br

3. TÉCNICAS DE CULTURA DE TECIDOS

3.1 Micropropagação

A Micropropagation é a propagação fiel de um genótipo selecionado por meio das técnicas da cultura *in vitro*.

3.1.1 Fontes de Explantes

a) Cultura de meristema

Consiste no estabelecimento do domo meristemático apical sem os primórdios foliares. A brotação apical tipicamente cresce, originando um único broto.

b) Cultura de ápices caulinares

È o estabelecimento *in vitro* a partir de brotações apicais maiores do que aquelas utilizadas para iniciar a cultura de meristema, tendo alguns primórdios foliares. Essas brotações apicais podem produzir múltiplas brotações.

c) Cultura de segmentos nodais

Os segmentos nodais são constituídos de gemas laterais isoladas, segmentos de caule com uma ou múltiplas gemas. Cada gema desenvolve para formar uma única brotação.

d) Cultura de embriões

È iniciada a partir de embriões zigóticos extraídos de sementes. Os embriões germinam originando brotos.

3.2 Microenxertia

Técnica que consiste em microenxertar, em condições assépticas, um ápice caulinar, retirado de uma planta matriz, sobre um porta enxerto estabelecido *in vitro*.

3.3 Outras Técnicas

Existem várias outras técnicas de culturas de tecidos utilizadas na agricultura, são elas:

- cultura de raízes;
- conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas;
- polinização e fertilização *in vitro*;
- cultura de embriões;
- cultura de ovários;
- protoplasto e
- indução de mutações *in vitro*.

4. APLICAÇÕES DAS TÉCNICAS DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS PARA O MELHORAMENTO

As principais aplicações das técnicas de cultura de tecidos vegetais podem ser sumarizadas nas seguintes:

a) Cultura de meristemas

Técnica mais antiga para a propagação clonal massal e para a obtenção de plantas livres de vírus, principalmente quando combinada com a técnica de termoterapia. Esta técnica é relativamente simples e aplicável a um grande número de espécies.

b) Avaliação rápida de suscetibilidade

A cultura de células, tecidos e órgãos pode ser empregada para a avaliação de suscetibilidade/tolerância à várias moléstias ou estresses abióticos.

c) Indução de florescimento precoce

Esta técnica é empregada para reduzir o longo período de juvenilidade que ocorre principalmente nas plantas perenes, permitindo uma redução substancial de tempo nos programas de melhoramento genético.

d) Variação somaclonal

O ambiente da cultura *in vitro* pode induzir variabilidade nas culturas este fenômeno foi denominado de variação somaclonal. A variabilidade gerada desta maneira pode ser importante para o melhoramento genético.

5. PROBLEMAS NA CULTURA *IN VITRO*

O cultivo *in vitro* como qualquer outro processo é sensível a alguns problemas de ordem ambiental ou biológico que afetam diretamente o desenvolvimento das culturas. Dentre estes problemas pode-se citar a oxidação, o declínio no vigor e a hiperhidricidade.

5.1. DECLÍNIO DE VIGOR

A baixa taxa de desenvolvimento é chamada de declínio do vigor e está associado com a produção de substâncias fenólicas ou a outros fatores como vitescência, habituação ou maturidade dos explante.

5.2. NECROSES

Necrose pode ser descrita como sendo a morte de uma parte de um organismo vivo. Isto ocorre com explantes colocados *in vitro*, podendo ter uma perda parcial ou a de toda a cultura (Santos, et. al., 2001).

5.3. OXIDAÇÃO

A oxidação é a reação do oxigênio com íons metálicos (+) dos outros compostos do meio de cultivo. Os explantes ao serem inoculados no meio de cultura podem liberar exudatos que tornam o meio de cultivo escuro. Este tipo de escurecimento é consequência da liberação de fenóis dos ferimentos ocasionados no processo de extração dos explantes (SANTOS et al, 2001).

5.4. HIPERHIDRICIDADE

A hiperhidricidade é definida como o estado fisiológico que a planta apresenta elevado teor de água no interior das células e tecidos com aspecto translúcido.

6. ACLIMATIZAÇÃO DAS PLANTAS

Aclimatização e aclimação são termos que apresentam conotações diferentes. O primeiro trata dos processos para a passagem da planta que está *in vitro* para o ambiente e é definido como a adaptação climática de um organismo, especialmente uma

planta, que é transferida para um novo ambiente, sendo todo esse processo realizado artificialmente.

O termo aclimação tem um significado similar, mas é um processo no qual as plantas ou outros organismos se tomam ajustados a um novo clima ou situação, como resultado de um processo essencialmente natural.

7. ENRAIZAMENTO

O enraizamento é uma etapa que define o resultado final da microropagação, é a etapa onde ocorre a formação de raízes adventícias nas partes aéreas. Pode ser dividido em indução, iniciação e alongamento das raízes (TORRES, 1998). Pode ser realizada *in vitro* como no ambiente externo, porém resultados mais satisfatórios para a maioria das espécies, tem sido obtidos no enraizamento *ex vitro*.

8.1 Enraizamento *In Vitro*

A vantagem deste tipo de enraizamento é o melhor controle das condições em que se trabalha e, com isso, a obtenção de um alto percentual de enraizamento. Por outro lado, a desvantagem do método é que as raízes formadas *in vitro* nem sempre são eficientes na absorção de água e de nutrientes, no momento da passagem das mudas para o substrato.

8.2 Enraizamento *Ex Vitro*

A técnica de enraizamento *ex vitro* consiste em destacar brotações e plantá-las no substrato desejado, que pode ser: turfa, areia, vermiculita, perlita, bandejas de espuma fenólica e ou substratos comerciais, ainda solo esterelizado.

9. ESPÉCIES E TECNOLOGIAS EMPREGADAS

A seguir são listados alguns exemplos de espécies vegetais e respectivas tecnologias cujo emprego já é corrente:

- **Dendezeiro:** primeiro projeto no qual plântulas originadas a partir de embriogênese somática foram cultivadas a campo, (Unilever, Malasia, 1975).

- **Coníferas:** primeiro projeto no qual tecnologias de poliembriogênese somática desenvolvidas e

patenteadas pela Universidade da Califórnia-Davis foram transferidas para empresas de reflorestamento (Weyerhaeuser, Washington, USA), para a clonificação de genótipos superiores resultantes de programas convencionais de melhoramento genético.

- **Eucaliptos:** organogênese, embriogênese somática (USA, Europa). Microestacas (Brasil): aumento de 135% na produtividade de polpa a partir de clones selecionados em comparação a população base.

- **Pyrus, Malus, Prunus:** Limpeza viral e micropropagação (cultura de meristemas e de segmentos nodais) para a propagação massal de porta-enxertos e para o estabelecimento de variedades-copa matrizes sadias.

- **Videira:** embriogênese somática e organogênese para a propagação massal de porta-enxertos e variedades-copa isentas de moléstias.

- **Bananeira:** regeneração em larga escala de mudas isentas de pragas moléstias como Mal do Panamá e Sigatoka-negra. Atualmente a maior parte dos bananais são instalados com mudas micropropagadas produzidas em Biofábricas.

- **Moranginho, abacaxizeiro (Figura 1), alho, cebola, batatinha, mandioca:** Obtenção de plantas matrizes isentas de viroses, pela aplicação da técnica de cultura de meristemas e subsequente micropropagação massal.



Figura 1: Cultivo *in vitro* de abacaxi. Fonte: Cid, 2000.

- **Citros, mamoeiro e mangueira:** Melhoramento e plantas isentas de moléstias.

- **Brassica sp:** resgate de embriões resultantes de cruzamentos incompatíveis, ativação de

embriogênese somática e encapsulamento para a obtenção de sementes sintéticas. Sakata Seed Co., Japão.

- **Cacau e café:** embriogênese somática para a propagação massal de variedades melhoradas e resistentes a moléstias (EUA e Costa Rica).

10. CONCLUSÕES

A cultura de tecidos é uma técnica de fundamental importância, tanto no melhoramento genético de plantas, como na obtenção de plantas sadias, sendo de grande interesse na obtenção em larga escala de mudas geneticamente idênticas que darão origem à plantas com características superiores, fato este de grande relevância para a melhoria da produção das culturas.

11. REFERÊNCIAS

CID, L. P. B. **A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso?** Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. v.2, n. 25, 2000.

FERREIRA, M. A.; CALDAS L. S.; PEREIRA E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: Embrapa SPI: Embrapa CNPH. v. 1, p. 21-43, 1998.

GUERRA M. P.; NODARI R. O. **Apostila de Biotecnologia vegetal.** Apostila de aula. [<http://www.cca.ufsc.br/lfdgv/Apostila.htm>]. 2007.

SANTOS, R. B.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O.; SANTANA, J. R. F. **Problemas no cultivo *in vitro*: cultura de tecidos.** Paiva e Paiva, UFLA, Lavras, M.G. 9:73-79. 2001.

TORRES A. C, CALDAS L. S.; BUZZO J. A. (Eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas.** v.1. e 2. Brasília, Embrapa, 864p. 1998.