

## Biofábrica de Plantas Ornamentais.

Segeren, Monique Inês<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pro-Clone Pesquisa e Comércio de Produtos de Biotecnologia Ltda. Rua dos Girassóis, 70- centro, Holambra–SP, Cx. Postal 157, CEP: 13825-000, fone: (19) 38021787, email: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br)

### INTRODUÇÃO

A técnica de cultura de tecidos vegetais “*in vitro*” de flores e plantas ornamentais visando a sua propagação clonal foi desenvolvida, inicialmente, na Inglaterra e na França na década de 60. As orquídeas, o crisântemo e o cravo dominaram a fase inicial. De fato o processo de propagação “*in vitro*” de orquídeas a partir de protocórmios, foi o que mais entusiasmou os colecionadores e empresários, pois foi o que comprovou que é possível obter milhares de cópias filhas sob condições assépticas (Morel, 1960).

A propagação clonal em escala maior de outras flores e plantas ornamentais foi possível após trabalhos de Holdgate & Aynsley (1977) e Murashige (1974).

Atualmente a multiplicação clonal “*in vitro*”, também denominada micropropagação “*in vitro*”, tem causado grande impacto na produção, em escala de flores plantas ornamentais. Estas são, geralmente, espécies herbáceas e arbustivas, propagadas tradicionalmente por via vegetativa. Neste processo estão sujeitas, muitas vezes, a “estresses” ambientais e ao ataque de pragas e doenças, que podem comprometer seriamente a qualidade do produto final, que é o principal objetivo dos produtores tanto para a comercialização no mercado interno como para atender o exigente mercado de exportação.

Diversos agentes patogênicos (bactérias, fungos e vírus) afetam seriamente a produtividade e a qualidade das flores e plantas ornamentais. As bactérias e fungos podem ser geralmente, controlados com eficiência com a aplicação de defensivos agrícolas. Entretanto, os vírus, por sua ocorrência sistêmica, são de difícil controle. Felizmente, a cultura de meristemas “*in vitro*”, tem promovido a limpeza de inúmeros vírus, resultando em matérias básicos.

Além disso, os sistemas de certificação de mudas, flores e plantas ornamentais, são altamente dependentes da manutenção de materiais básicos, nos quais a sanidade constitui exigência fundamental. Dependendo do(s) patógenos que afeta(m) os clones, as técnicas de cultura de meristema, podem ser associadas a outras complementares, como a termoterapia ou a quimioterapia. Ao final da indexação, obtém-se o material básico do qual selecionadas as matrizes registradas, fornecedoras de sementes, estacas, gemas, escamas ou mudas para multiplicação em escala.

A multiplicação clonal “*in vitro*” apresenta inúmeras vantagens, em relação à propagação vegetativa tradicional, enumeradas a seguir:

a) *Uniformidade de produto final*: produção, a partir de uma planta matriz selecionada, de inúmeros indivíduos idênticos a ela, o que facilita enormemente a sua condução posterior em casas de vegetação e comercialização final.

b) *Rapidez de multiplicação*: possível obtenção, em um único ano, de até um milhão de plantas-filhas idênticas à planta original, desde que todas as fase do processo tenham sido previamente, bem definidas e cumpridas.

c) *Controle efetivo de doenças*: diversas doenças, principalmente, as de origem virótica podem inviabilizar, totalmente, a produção econômica de flores e plantas ornamentais. Para a maioria delas, não existem controles químicos e/ou culturais eficientes. O processo de micropropagação “*in vitro*”, por ser realizado em condições assépticas, a partir de plantas-

matrizes previamente testadas quanto a sanidade, permite a obtenção, em escala, de mudas sadias.

d) *Facilidade de manuseio e transporte*: embora exigindo embalagens e cuidados especiais o manuseio e o transporte dos materiais obtidos “*in vitro*” é de custo relativamente reduzido.

Por outro lado, os principais obstáculos ao emprego generalizado da técnica tem sido os seguintes:

a) Custo elevado das instalações, equipamentos e materiais (vidraria e reagentes). Um laboratório padrão para micropropagação “*in vitro*” necessita de:

- Sala de preparo de meio de cultura;
- Sala de transferência (repique);
- Sala de cultura;
- Sala de lavagem de vidraria.

Na sala de preparo de meios de cultura os seguintes equipamentos devem estar presentes: autoclave, destilador e/ou deionizador de água, balança de precisão, forno microondas, geladeira e pHmetro. Na sala de transferência (repique) é necessária uma câmara de fluxo laminar e uma lupa estereoscópica. Na sala de cultura, além de ar condicionado, central ou não (controle de temperatura), é necessária a instalação de prateleiras com lâmpadas fluorescentes especiais. Finalmente, a sala de lavagem deve conter, no mínimo, uma estufa de secagem apropriada.

- Necessidade de limpeza absoluta de todas as dependências e dos materiais utilizados. Em caso contrário, pode ocorrer contaminação generalizada por fungos e bactérias, de difícil controle.

- Necessidade de pessoal altamente especializado para as operações em câmara de fluxo laminar e de preparo dos meios de cultura.

- Acesso difícil e confiabilidade à plantas indexadas para viroses.

## CARACTERÍSTICAS DAS PLANTAS-MATRIZES PARA INICIAR UMA CULTURA DE TECIDOS “IN VITRO”

Plantas-matrizes bem nutridas e supridas com água suficiente durante todo o seu período de crescimento, até a retirada dos explantes, são as que dão as melhores respostas. O estágio fisiológico da planta-matriz, por ocasião da retirada dos “explantes”, influi muito no crescimento e na qualidade de mudas obtidas livres de vírus.

A retirada dos meristemas, em geral, deve ser realizada a partir de brotos novos, e que se formaram durante a fase ativa do crescimento da planta-matriz. A condição fitossanitária da planta-matriz é importante para facilitar a descontaminação do explante. Plantas mantidas no campo estão exposta a poeira e insetos que deixam ferimentos, permitindo entrada de microorganismos.

A manutenção das plantas-matrizes em casa de vegetação permite o controle do fotoperíodo, umidade e da intensidade luminosa, além do seu estado nutricional.

Os principais explantes utilizados em flores e plantas são os meristemas, bulbos, folhas e sementes. Entretanto o material meristemático é o mais indicado por possuir maior capacidade morfogênica e apresentar as menores chances de mutação.

## OUTROS FATORES IMPORTANTES

Para o sucesso da cultura de tecidos vegetais, temos os seguintes fatores decisivos:

- A indexação das mudas matrizes para viroses;
- Manipulação correta da planta matriz;
- Condições ambientais e microambientais (dentro do frasco de cultura);
- Procedimentos e forma do corte nos subculivos;
- Fotoperíodo, intensidade luminosa e o regime de temperatura diurna/noturna ;devem atender às exigências da espécie em estudo.
- E finalmente, é fundamental, o conhecimento detalhado das condições de aclimação.

Todas as etapas dominadas até aqui podem ser perdidos caso não se conheça adequadamente as regras da aclimação.

## GERENCIAMENTO E PLANEJAMENTO DE UMA BIOFÁBRICA

Para que uma biofábrica possa atender com precisão, uma demanda específica (terceirizado) ou entregar milhares de plantas, dentro de um cronograma e planejamento de um produtor, há necessidade de um bom gerenciamento.

A seleção e treinamento de pessoal com habilidades especiais para execução dos repiques de plantas em capelas de fluxo laminar é a base para se ter sucesso neste tipo de empreendimento.

Automação em certos processos é possível, na forma de enchimento automático de potes plásticos e para certos grupos de plantas: os biorreatores.

Não podem ser descartados, todavia, o valor que há em uma atuação de profissional (de equipes) com experiência e “tempo de janela”, pois o processo que envolvem uma biofábrica de plantas, envolve inúmeras variáveis de difícil controle tais como: interação de cada genótipo vegetal com os componentes do meio de cultura, temperatura, fotoperíodo, luminosidade, tipos de substrato para aclimação de mudas e outros. A baixa repetibilidade dos resultados obtidos e problemas de ordem fisiológica inerentes a técnica empregada (juvenildade, vitrificação e oxidações) podem inviabilizar um planejamento e destruir a credibilidade de uma biofábrica que opera para atender demandas de mercado.

A conclusão que se pode chegar é que valores que agregam a experiência, conhecimento, além de criatividade e bom censo podem assegurar objetivos propostos na hora de abrir uma biofábrica.

## MERCADO E CONCLUSÃO

O Setor de flores e plantas ornamentais nos últimos anos ganhou um impulso muito grande. O mercado externo saltou de 13,2 milhões para quase 30 milhões de dólares em cinco anos (2001-2007). Ao contrário de países como Costa Rica e África (Quênia) que exportam toda produção de flores, no Brasil há 150 milhões de pessoas com potencial de consumo de flores. O projeto Flores São Paulo com apoio do SEBRAE está estimulando e incentivando o aumento de consumo e tornar o hábito de utilizar flores naturais em datas festivas ou mesmo como na Europa, onde mesmo em dias comuns as flores constituem um item de consumo.

A nossa parcela de participação no acesso ao mercado mundial de US\$ 64 bilhões para flores está associado a um bom desenvolvimento tecnológico e de mudas matrizes padronizadas e certificadas. A garantia de quantidade de produção com precisão na entrega são itens obrigatórios associados à exportação.

O alto custo do processo que envolve as etapas de micropropagação, ocasionado principalmente por produção por sistemas de autoclavagens artesanais, as quais demandam grande consumo de energia e tempo, aliado a falta de recipientes específicos que possibilitem trocas gasosas em substituição aos vidros utilizados nas autoclavagens, prejudicam a constância na entrega de volume de qualidade em quantidades num determinado tempo (produtividade), impossibilitando assim, a atuação das biofábricas brasileiras em mercados maiores e mais lucrativos, inclusive no mercado de exportação.

Para transpormos tais barreiras, é importante olharmos o processo produtivo como um todo incorporando a ele o conhecimento de base tecnológica disponível no meio

acadêmico nacional, desde o elo inicial da cadeia (obtenção de matrizes brasileiras de qualidade através de programas de melhoramento genético) até a otimização no ganho de escala e produtividade no processo de micropropagação. A Proclone fabricou um sofisticado equipamento, ou seja, uma máquina de esterilização de meio, para substituir o processo de autoclavagem, com menos gasto de energia elétrica, e uma forma mais confiável de produzir grandes volumes de meio de cultura. Outra inovação é o desenvolvimento de um pote para meio de cultura que possa ser usado inclusive para exportação, em substituição ao atual que foi uma adaptação para substituir os vidros usados na autoclavagem. Tal pote - projetado de forma a possibilitar uma troca de CO<sub>2</sub> e etileno com O<sub>2</sub> de dentro do pote com o ar ambiente externo. Tal medida possibilitaria à planta um desenvolvimento melhor e mais rápido, melhorando a produtividade do setor de micropropagação. Dentro deste contexto, a contribuição a este projeto se concentrou no auxílio ao desenvolvimento e comparação de protocolos específicos (protocolo de esterilização de explantes meristemáticos e métodos para o isolamento dos mesmos; protocolo de composição e pH dos meios de cultura) para micropropagação de espécies e cultivares de *Zantedeschia spp.* utilizando diferentes frascos (potes e vidros). Também foi testado o sistema de esterilização por autoclave e o sistema de esterilização plasma. Indiscutivelmente, a micropropagação aliada ao melhoramento genético é estratégia a ser investigada, tanto no setor de floricultura, horticultura e em toda a ampla biodiversidade brasileira a ser trabalhada para melhorias na indústria oleoquímica (fármacos, fitoterápicos e biodiesel).

#### BIBLIOGRAFIA

MOREL, G. Producing vírus-free Cymbidium. **Am. Orchid Soc. Bull.**, v. 29, p.495-497, 1960.

HOLDGATE, D.P.; AYNLEY, J.S. The development and establishment of a commercial tissue culture laboratory. **Acta Hortic.**, v. 78, p. 31-36,1977.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Ann Rev. Plant Physiol.**, v. 25, p. 135-166, 1974.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol Plan**, v. 15, p. 473-497, 1962.

#### OUTRAS REFERÊNCIAS

**FOLHA INOVAÇÃO**. Edição Especial 20, Brasiltec julho de 2003 – Informativo da Finep.

**COMO EXPORTAR**- Países baixos- Ministério das Relações Exteriores - Departamento de Promoção Comercial - divisão de Informação comercial, Brasília, 2002.

**IBRAFLOR** – RELATÓRIO SETORIAL INTEGRADO DE EXPORTAÇÃO DE FLORES E PLANTAS ORNAMENTAIS. Mercado Internacional de Flores e Plantas Ornamentais: características de mercado e do exportador brasileiro.

“**MÁQUINA** de esterilização de meio de cultura e distribuição automática em alíquotas em recipientes descartáveis” (Projeto realizado por programa PIPE-FAPESP sob Coordenação da Dra. Monique Inês Segeren na empresa ProClone. (Concluído).

**Desenvolvimento** de um Programa Inédito no Brasil de Melhoramento Genético para *Zantedeschia spp.* com o auxílio de marcadores moleculares, visando a obtenção de novos cultivares comerciais -Projeto de Programa PIPE-FAPESP.

PALAVRAS CHAVES:

Biofábrica, cultura *in vitro*, ornamentais.