

Desempenho de mudas micropropagadas

Micropropagated plants performance

ANA CRISTINA PORTUGAL PINTO DE CARVALHO¹ e ANTONIO FERNANDO C. TOMBOLATO²

Grande empenho tem sido direcionado para otimizar as condições das diferentes etapas da produção de mudas *in vitro*. Quanto ao processo de aclimatização das mudas micropropagadas, este ainda não foi totalmente elucidado, acarretando com que a etapa de transplântio continue sendo um dos maiores entraves da micropropagação de várias espécies (Hazarika, 2003). Maior carência de estudos é encontrada quando se trata da comparação do desempenho, a nível de campo, das mudas micropropagadas em relação às mudas obtidas pelos métodos convencionais. Na literatura disponível, são poucos os relatos encontrados, sendo estes às vezes contraditórios, necessitando de estudos mais detalhados. Essas informações são de grande importância tanto para empresários quanto para produtores rurais na decisão da implantação do empreendimento, de forma a garantir sucesso no investimento efetuado.

Mudas micropropagadas necessitam ser avaliadas e seu desempenho comparado com o das mudas produzidas por métodos convencionais, a nível de campo, durante vários ciclos sucessivos. Nesta comparação, as principais características agrônômicas consideradas são: hábito de crescimento; precocidade; intensidade e regularidade de floração e frutificação; produção e produtividade; comportamento em relação a pragas e doenças.

Segundo George (1993/1996), com poucas exceções, as mudas micropropagadas resultam em plantas com crescimento uniforme que florescem e frutificam normalmente. O desempenho de mudas de espécies herbáceas obtidas *in vitro*, cuja maturidade é atingida em

um ou dois anos, pode ser monitorado com maior facilidade. Já para a avaliação do desempenho de plantas lenhosas obtidas através da cultura de tecidos, como a maturidade só é alcançada após vários anos, necessita de um tempo muito maior para ser estudado. Por esta razão, existem poucas informações sobre o comportamento, a nível de campo, de mudas micropropagadas de espécies lenhosas durante vários ciclos sucessivos (George 1993/1996). O antúrio, apesar de ser uma planta herbácea, apresenta ciclo longo, como muitas espécies lenhosas. Sendo assim, apesar de se esperar que as plantas micropropagadas tenham comportamento igual ou superior àquelas obtidas por técnicas tradicionais, não se pode assegurar, para períodos curtos de observação, que seu crescimento e performance sejam iguais, fato este que pode levar a equívocos.

A seguir são citados alguns exemplos encontrados na literatura. A espécie frutífera mais estudada, em cultura de tecidos, é a bananeira. Em estudo comparativo entre mudas de bananeira obtidas por cultura de meristemas com mudas tradicionais, Hwang et al. (1984) verificaram que aquelas provenientes da cultura *in vitro* foram tão produtivas quanto às convencionais, tendo o período de colheita encurtado em até 3 meses, devido ao desempenho mais uniforme das mudas micropropagadas.

Mudas micropropagadas de bananeira apresentam comportamento igual ou superior às mudas convencionais (Smith e Drew, 1990; Vuylsteke, 1998). Plantas micropropagadas apresentam maior rapidez no estabelecimento, maior vigor durante o crescimento, são mais altas, possuem um ciclo de produtividade mais

¹Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2.270 Planalto Pici, CP: 3761, 60511-110 - Fortaleza, CE - Brasil, Fone: (85) 3299-1839 - Fax: (85) 3299-1833. E-mail: cristina@cnpat.embrapa.br

²Instituto Agrônômico, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Jardim Botânico, Av. Barão de Itapura, 1.481 Guanabara, CP: 28, 13020-902 - Campinas, SP - Brasil, Fone: (19) 3241-5188 - Fax: (19) 3241-5188. E-mail: tombolat@iac.sp.gov.br

precoce e uniforme, e produções superiores quando comparadas com as de propágulos convencionais (Drew e Smith, 1990; Robinson et al. 1993; Vuylsteke e Ortiz, 1996). Entretanto este comportamento superior no campo, não parece ser consistente, caso a cultura não seja conduzida adequadamente (Vuylsteke, 1998). As mudas micropropagadas produzem 30% a mais do que mudas convencionais (Sanada, 1993), permitindo colheita sincronizada nos primeiros ciclos da cultura, graças à homogeneidade das mudas e possibilitam maior vigor das plantas, maior número de dedos por penca, maior número de pencas por cacho, menor variabilidade no tamanho e forma dos frutos, e menor incidência de nematóides em áreas contaminadas (Orellana et al., 1991; Quynh e Uyen, 1993). Ariel (1997) menciona que o aumento da produtividade pode ser de 15 a 25%; a colheita mais precoce; o tempo decorrido do plantio até a primeira floração pode ser reduzido de 4 a 8 semanas; maior uniformidade. Como as mudas provenientes da cultura de tecidos são uniformes em tamanho e desenvolvimento, isto permite economia de mão-de-obra e programação da colheita para períodos mais convenientes.

Em flores e plantas ornamentais, alguns exemplos podem ser citados:

Alstroeméria: Objetivando estudar a floração em alstroeméria, Pedersen et al. (1996) testaram nove genótipos, sob quatro regimes de temperatura (5, 10, 15 e 20°C durante seis semanas) e três métodos de reprodução (mudas obtidas por sementes, por divisão de rizomas e por micropropagação). Os experimentos foram conduzidos com objetivo de estudar se é possível induzir a floração em mudas durante a cultura *in vitro*, fazendo com que o tratamento de frio seja parte integrante do processo de micropropagação. As plantas micropropagadas foram submetidas aos diferentes tratamentos de temperatura durante a fase de enraizamento *in vitro*. As mudas oriundas da divisão de rizomas e da germinação de sementes foram submetidas aos regimes de temperatura na ocasião do plantio das mudas nos vasos. Para todos os métodos de reprodução, a indução da floração foi possível a temperatura de 15°C ou inferior. Os autores não observaram diferenças significativas entre os diferentes métodos de reprodução quanto

ao percentual de plantas que floresceram. O tempo decorrido entre o término do tratamento de temperatura e o início de floração foi maior para as mudas micropropagadas do que para os outros tipos de mudas. Este atraso, segundo os autores, não foi devido a cultura *in vitro per se*, mas sim devido a diferença no tamanho das mudas micropropagadas durante o tratamento de frio. As mudas obtidas da divisão de rizoma e as plantas micropropagadas tinham a mesma altura na época de floração. No segundo experimento, os autores maximizaram a formação de raízes durante o cultivo *in vitro*, o que resultou na redução do tempo para floração, nas mudas micropropagadas. Os autores concluíram que a indução floral de alstroeméria *in vitro* é possível e que a temperatura ótima parece ser independente do método de reprodução. Tendo em vista a dificuldade da obtenção de temperaturas suficientemente baixas para indução de floração sob condições de casa de vegetação durante o verão, a indução da floração *in vitro* pode permitir a produção de alstroeméria durante o ano todo.

Aráceas: *Pinellia ternata* é uma herbácea perene silvestre medicinal que cresce naturalmente no Japão e na China. Seus tubérculos são utilizados na prevenção contra vômitos e como analgésico e sedativo. Shoyama et al. (1983a,b) constataram que as plantas micropropagadas apresentaram características morfológicas semelhantes às plantas desenvolvidas naturalmente no campo. Uchida (comunicação pessoal, 2005) apontou que um dos graves entraves da cultura do antúrio, no Havaí, é que a propagação vegetativa tradicional das plantas, em campo, perpetua os problemas com bacteriose, além de outras questões fitossanitárias.

Cravo-de-defuntos: Kumar et al. (2004) conduziram um estudo comparativo, a nível de campo, de plantas macho-estéreis obtidas através da micropropagação e da germinação de sementes de dois genótipos de *Tagetes erecta* L. Os autores concluíram que a cultura *in vitro* resultou em plantas, de ambos genótipos, com desempenho superior. As plantas eram mais vigorosas durante o crescimento, isto é, apresentaram maiores valores para altura da planta, número de ramificações secundárias e número de folhas, enquanto que os conteúdos de clorofila das folhas foram iguais aos das plantas obtidas

por sementes. A floração foi mais precoce de duas a três semanas e o número de flores por planta também foi superior nas mudas micropropagadas. Polinizações manuais efetuadas nas flores estéreis resultaram em quantidades superiores ou iguais de sementes quando comparadas com as mudas derivadas de sementes. Os autores mencionam que os resultados obtidos indicam claramente que a cultura de tecidos pode ser utilizada com sucesso na clonagem de plantas macho-estéreis, que poderiam, então, ser utilizadas para produção de sementes F_1 com maior quantidade e melhor tempo de armazenamento.

Gladiolo: Dantu e Bhojwani (1995) constataram que as plantas micropropagadas apresentaram a cor da flor e outras características morfológicas idênticas às das plantas matrizes. Entretanto, durante o primeiro ciclo da cultura, os autores observaram diferenças em algumas características nas mudas micropropagadas, tais como: tamanho da folha, altura da planta, tamanho da inflorescência e número de flores por espiga. Estes autores argumentaram que esse comportamento poderia ser devido principalmente ao baixo nível nutricional das mudas obtidas *in vitro* quando comparadas com os mudas oriundas de propágulos de cormos, e não a alterações no genótipo. Análises citológicas realizadas em plantas micropropagadas, mesmo após 12 subcultivos sucessivos, revelaram que o número de cromossomos das células somáticas e haplóides permaneceu estável, apresentando pareamento normal durante a meiose.

Ranúnculo: Beruto et al. (1996) avaliaram mudas de *Ranunculus asiaticus* oriundas de cultura de tecidos e de sementes. Os autores verificaram que as mudas micropropagadas alcançaram produções mais altas, e que três meses após o plantio, o desenvolvimento destas plantas foi maior do que o das mudas obtidas de sementes de mesma idade. As mudas micropropagadas também apresentaram maior número de brotos, e uma ligeira precocidade na floração. Nas mudas oriundas de sementes, a floração ocorre, geralmente, de 14 a 16 semanas após a germinação das sementes, enquanto as mudas de cultura de tecidos floresceram 20 a 30 dias mais cedo, dependendo do genótipo. Os autores verificaram que, de um modo geral, as mudas obtidas de sementes só produziram 1,5 - 2,5 flores por planta, para a maioria dos genótipos testados, resultando

numa produção de flores muito maior nas mudas micropropagadas, variando de 1 a 10,3 flores por planta. A porcentagem de floração das mudas obtidas *in vitro* foi inversamente proporcional ao tempo de permanência *in vitro*. As mudas que permaneceram *in vitro* durante sete meses apresentaram 100% de floração, contrastando com aquelas mantidas *in vitro* após 58 meses, que não floresceram. Este fato provavelmente se deve ao efeito cumulativo da citocinina no meio de cultura. A permanência da planta por longo período *in vitro*, isto é, em fase vegetativa, pode retardar o processo de florescimento. Os autores também verificaram que as mudas micropropagadas produziram maior número de rizomas por planta, do que ocorre normalmente com plantas produzidas por sementes (apenas um rizoma por planta) provavelmente como resultado da utilização de citocinina durante o processo de micropropagação.

Rosa: Mudanças micropropagadas de 36 cultivares de roseira de porte determinado, quando comparadas com mudas obtidas por estaquia, apresentaram floração precoce, brotações mais curtas e com menor número e distância de entrenós, sendo estes mais curtos (Dubois et al., 1988).

Referências Bibliográficas:

- ARIEL, T. Micropropagación de la banana usando técnicas de cultivo de tejidos. Agrotecnología en Israel, p.54, 1997.
- BERUTO, M.; CANE, G.; DEBERGH, P. Field performance of tissue-cultured plants of *Ranunculus asiaticus* L. Scientia Horticulturae, v. 66, n.3-4, p.229-239, out. 1996.
- DANTU, P.K.; BHOJWANI, S.S. *In vitro* corm formation and field evaluation of corm-derived plants of *Gladiolus*. Scientia Horticulturae, v.61, n.1-2, p.115-129, set. 1995.
- DREW, R.A.; SMITH, M.K. Field evaluation of tissue-cultured bananas in south-eastern Queensland. Australian Journal of Experimental Agriculture, v.30, p.569-574, 1990.
- DUBOIS, L.A.M.; DE VRIES, D.P.; ROGGMANS, J. Comparison of the plant habit of pot roses propagated *in vitro* and by cuttings. In: VON HENTING, W.-U.; GRÜBER, G. International Symposium on Propagation of Ornamental Plants. Acta Horticulturae (ISHS) 226. p.611-618.
- Rev. Bras. Hortic. Orn., Campinas, v.10, n.1/2, p.20-23, 2004

614, jun. 1988.

GEORGE, E.F. The Phenotype of Micropropagated Material. In: _____. Plant Propagation by Tissue Culture, Part 2 in Practice. 2. ed., 1993/1996, p.753-758.

HAZARIKA, B.N. Acclimatization of tissue-cultured plants. Current Science, v.85, n.12, p.1704-1712, dez. 2003.

HWANG, S.C.; CHEN, C.L.; LIN, J.C.; LIN, H.L. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. HortScience, v.19, n.2, p.231-235, 1984.

KUMAR, A.; SINGH, S.K.; SHARMA, S.K.; RAGHAVA, S.P.S.; MISRA, R.L. Comparison of seed-derived with micropropagated male-sterile plants of *Tagetes erecta* L. for F₁ hybrid seed production. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, v.79, n.2, p.260-266, mar. 2004.

ORELLANA, P.; PEREZ PONCE, J.; AGRAMONTE, D.; GOMEZ, R.; JIMENEZ, E.; MARTINEZ, S.; ALMAGUER, E.; GOMEZ, P. La micropropagacion del plátano a escala comercial en Cuba. ACEVIV Boletín Científico, v.3, n.3, p.29-38, 1991.

PEDERSEN, C.; HANSEN, C.W.; BRANDT, K.; KRISTIANSEN, K. *Alstroemeria* plantlets can be induced to flowering by cold treatment during *in vitro* culture. Scientia Horticulturae, v.66, n.3-4, p.217-228, out. 1996.

QUYNH, N.T.; UYEN, N.V. Adapted propa-

gation techniques for commercial crops of the tropics. Stockholm: International Foundation for Science, 1993. 244p.

ROBINSON, J.C.; FRASER, C.; ECKSTEIN, K. A field comparison of conventional suckers with tissue culture banana planting material over three crop cycles. Journal of Horticultural Science, v.68, p.831-836, 1993.

SANADA, M. Micropropagation of semitropical crop and its application to cultivation in Okinawa. In: THIQUYNH, N.; UYEN, N.V. (Eds.). Adapted propagation techniques for commercial crops of the tropics. Stocjholm: [s.n.], 1993. p.101-105.

SHOYAMA, Y.; HATANO, K.; NISHIOKA, I. Clonal multiplication of *Pinellia ternata* by tissue culture. Planta Medica, v.49, p.14-16, 1983a.

SHOYAMA, Y.; HATANO, K.; NISHIOKA, I. Rapid and simple multiplication of *Pinellia ternata* by tissue culture. Planta Medica, v.47, p.103-105, 1983b.

SMITH, M.K.; DREW, R.A. Current applications of tissue culture in plant propagation and improvement. Australian Journal of Plant Physiology, v.17, p.267-289, 1990.

UCHIDA, J. 45 Congresso Brasileiro de Olericultura, 15º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais e 2º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas, Fortaleza, 2005 (Comunicação pessoal).

VUYLSTEKE, D. Field performance of ba-