

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **Introdução à Micropropagação de Plantas**

*Antônio da Silva Souza  
Tatiana Góes Junghans*  
Editores

*Cruz das Almas – BA  
2006*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**

Rua Embrapa, s/nº - Caixa Postal 007  
CEP 44380-000 - Cruz das Almas, Bahia  
Fone: (75) 3621-8000  
Fax: (75) 3621-8097  
www.cnpmf.embrapa.br  
sac@cnpmf.embrapa.br

**Comitê de Publicações da Unidade**

*Domingo Haroldo Reinhardt* - Presidente  
*Cristina Maria Barbosa Cavalcante Bezerra Lima* - Secretária  
*Adilson Kenji Kobayashi*  
*Alberto Duarte Vilarinhos*  
*Carlos Alberto da Silva Ledo*  
*Fernanda Vidigal Duarte Souza*  
*Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa*  
*Getúlio Augusto Pinto da Cunha*  
*Márcio Eduardo Canto Pereira*

**Supervisor editorial**

*Domingo Haroldo Reinhardt*

**Revisor de texto**

*Comitê de Publicações Local*

**Ficha catalográfica**

*Sônia Maria Sobral Cordeiro*

**Capa**

*Maria da Conceição Borba*

**Editoração eletrônica**

*Saulus Santos da Silva*

**Fotos da capa**

*Antônio da Silva Souza*  
*Fernanda Vidigal Duarte Souza*

**Tratamento das ilustrações**

*Maria da Conceição Borba*  
*Saulus Santos da Silva*

**1ª edição**

1ª impressão (2006)  
700 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação,  
no todo ou em parte, constitui violação dos  
direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

Introdução à micropropagação de plantas / editores  
técnicos Antônio da Silva Souza, Tatiana Góes  
Junghans. - Cruz das Almas : Embrapa Mandioca e  
Fruticultura Tropical, 2006.  
152p. : il. ; 22 cm.

Também em CD-ROM  
ISBN: 85-7158-015-4

1. Cultura de tecidos. I. Souza, Antônio da Silva.  
II. Junghans, Tatiana Góes.

CDD: 571.5382 (21. ed.)

© Embrapa 2006

## *Apresentação*

---

---

Dentre as técnicas de cultura de tecidos de plantas, a micropropagação é a de maior impacto na agricultura principalmente por permitir a produção de genótipos superiores em larga escala e isentas de patógenos. A propagação vegetativa *in vitro* possibilita a formação de indivíduos geneticamente idênticos a partir do cultivo de células, órgãos ou pequenos fragmentos extraídos de uma planta matriz.

O texto aborda a cultura de tecidos de plantas, a técnica da micropropagação propriamente dita e os requisitos básicos para a sua realização: a) organização e implementação de um laboratório de cultura de tecidos; b) preparo de meios nutritivos; c) seleção e manuseio do material vegetal de partida; e d) adaptação das plantas cultivadas *in vitro* às novas condições ambientais *ex vitro*. Enfoca também o surgimento e desenvolvimento de órgãos *in vitro* e análises estatísticas de experimentos realizados em condições de laboratório.

O principal objetivo deste livro é disponibilizar ao público em geral e, em especial, aos participantes dos cursos de "Micropropagação de Plantas", ministrados anualmente na ***Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical***, a partir de 2004, um roteiro impresso com temas apresentados de forma

seqüencial, ilustrada, prática e de fácil entendimento. A expectativa é de que o texto contribua para a formação de recursos humanos em micropropagação na iniciativa privada e em instituições públicas, tendo como alvo alunos de graduação e pós-graduação, técnicos em geral, facilitando assim a inserção de novos empresários em oportunidades de mercado geradas pelas técnicas de micropropagação.

***José Carlos Nascimento***

Chefe Geral

***Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical***

# Sumário

---

---

<b>Capítulo 1 - Introdução à Cultura de Tecidos de Plantas</b> .....	<b>11</b>
Introdução .....	11
Definição de Cultura de Tecidos .....	12
Histórico da Cultura de Tecidos de Plantas .....	13
Importância da Cultura de Tecidos .....	18
Vantagens da Cultura de Tecidos .....	19
Princípios Básicos da Cultura de Tecidos .....	22
Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos .....	31
Referências Bibliográficas .....	35
<b>Capítulo 2 - Micropropagação</b> .....	<b>38</b>
Introdução .....	38
Vantagens e Desvantagens .....	39
Impacto na Agricultura .....	40
Procedimentos Básicos para a Utilização da Técnica .....	43
Etapas Básicas da Micropropagação .....	46
Problemas e Limitações .....	49
Referências Bibliográficas .....	50
<b>Capítulo 3 - Organização e Implementação de um Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas</b> .....	<b>53</b>
Introdução .....	53
O Laboratório .....	55
Equipamentos .....	69
Vidrarias e Materiais de Plástico .....	71
Instrumentos e Materiais Diversos .....	71
Água .....	72
Reagentes .....	73
Implementação do Laboratório .....	75
Normas do Laboratório .....	77
Referências Bibliográficas .....	78

<b>Capítulo 4 - Meios Nutritivos para Micropropagação de Plantas</b> .....	<b>80</b>
Introdução .....	80
Meio para Inoculação do Explante .....	83
Meio para Multiplicação .....	86
Meio para Enraizamento .....	89
Preparação dos Meios Nutritivos .....	91
Ajuste do pH .....	94
Esterilização do Meio de Cultura .....	94
Referências Bibliográficas .....	96
<b>Capítulo 5 - Obtenção e Manuseio de Explantes</b> .....	<b>98</b>
Introdução .....	98
Planta Matriz .....	99
Rejuvenescimento dos Tecidos .....	101
Obtenção de Explantes .....	103
Desinfestação e Isolamento de Explantes .....	110
Referências Bibliográficas .....	113
<b>Capítulo 6 - Morfogênese in Vitro</b> .....	<b>115</b>
Introdução .....	115
Padrões Morfogênicos .....	116
Processos Associados à Morfogênese in Vitro .....	117
Diferenças entre Organogênese e Embriogênese .....	122
Fatores que Afetam a Morfogênese .....	124
Referências Bibliográficas .....	129
<b>Capítulo 7 - Aclimatização</b> .....	<b>131</b>
Introdução .....	131
Alterações Observadas em Plantas Micropropagadas .....	132
Procedimentos para Redução no Impacto do Transplântio .....	133
Condições para o Transplântio .....	134
Recipientes .....	136
Substratos .....	137
Referências Bibliográficas .....	139
<b>Capítulo 8 - Experimentação em Cultura de Tecidos</b> .....	<b>141</b>
Introdução .....	141
Conceitos Básicos .....	142
Princípios Básicos da Experimentação .....	144
Testes de Significância .....	146
Transformação de Dados .....	147
Precisão de Experimentos .....	149
Programas Estatísticos para Análise de Experimentos .....	150
Referências Bibliográficas .....	151

# **Introdução à Cultura de Tecidos de Plantas**

---

---

*Antônio da Silva Souza  
Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa  
Janay Almeida dos Santos-Serejo  
Tatiana Góes Junghans  
Fernanda Vidigal Duarte Souza*

## **Introdução**

A aplicação dos princípios genéticos tem possibilitado progressos significativos na geração de genótipos superiores de plantas ao longo dos anos. Nas últimas quatro décadas, as ciências biológicas lograram avanços consideráveis com o desenvolvimento de uma série de técnicas que tem permitido estudar as plantas aos níveis celular e molecular. Estes novos enfoques compõem o que se denomina de biotecnologia e, quando integrados entre si e com métodos convencionais de melhoramento genético, têm superado desafios e encontrado soluções para muitos problemas relacionados com a biologia vegetal.

Entre os diversos procedimentos biotecnológicos, sem dúvida alguma, o ramo da biologia celular e particularmente a cultura de tecidos é o que mais êxito alcançou, inclusive por ser aquele que vem sendo estudado há mais tempo. A cultura de tecidos envolve um grupo heterogêneo de técnicas