

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO DE CIENCIAS AGRARIAS

RELATORIO DE ESTAGIO

ALUNA -RITA MARIA B.F.L. DA COSTA

ORIENTADOR-PROF.MIGUEL PEDRO GUERRA

CO-ORIENTADORES-APARECIDO L.DA SILVA

-MAURICIO S.DOS REIS

FLORIANOPOLIS, 15 DE NOVEMBRO DE 1987

R 62
Ex. 1

I D E N T I F I C A C A O

1. DADOS DO ESTUDANTE

1.1 NOME : Rita Maria Belard da Fonseca Lopes da Costa

1.2 MATRICULA N : 8318634-4

1.3 DATA DE INGRESSO : Marco de 1987

1.4 DATA PREVISTA DE CONCLUSAO : Dezembro de 1987

2. ORIENTACAO DO ESTAGIO

2.1. ORIENTADOR : Prof. Miguel Pedro Guerra

2.2. CO-ORIENTADORES : Prof. Mauricio Sedrez dos Reis

: Prof. Aparecido Lima da Silva

3. AREA DE REALIZACAO

3.1. AREA : Fitotecnia.

3.2. SUB-AREA: Biotecnologia Vegetal

3.3. AREA ESPECIFICA : Cultura de Tecidos Vegetais

4. LOCAL DE REALIZACAO

4.1. Laboratorio de Cultura de Tecidos Vegetais CCA-UFSC

4.2. Complementacao : CNPFT- EMBRAPA Pelotas R.S.

CENARGEN - EMBRAPA Brasilia D.F.

CNPT- EMBRAPA Passo Fundo R.S.

A P R E S E N T A C A O

Pelo presente relatorio estamos submetendo a apreciacao os trabalhos realizados no emergente Laboratorio de Cultura de Tecidos do Departamento de Fitotecnia do CCA-UFSC durante o periodo que envolveu a nossa colaboracao, de Abril de 1984 a Junho de 1987.

Neste abordamos inicialmente os aspectos basicos que envolvem a Biotecnologia e que comprovam a necessidade de se implementar e estruturar uma area desta natureza no Centro de Ciencias Agrarias da Universidade Federal de Santa Catarina em Florianopolis.

Na segunda parte sao enfatizadas as atividades desenvolvidas e as perspectivas que englobam. Neste estao relacionadas as atividades conjuntas realizadas no periodo de Abril de 1984 a Marco de 1985, quando a. aluna atuou como estagiaria, sob orientacao do Pof. Miguel Pedro Guerra, em colaboracao com a prof. Geni Sunta Toni; de Marco de 1985 a Dezembro de 1986 como bolsista de Pesquisa da UFSC e de Marco de 1986 ate o presente como bolsista de Iniciacao Cientifica do CNPq.

Finalmente serao relacionados os estagios realizados em outras instituicoes e que serviram nao apenas de complemento as atividades desenvolvidas, mas permitiram a introducao de novas tecnicas nas rotinas do laboratorio bem como a relacao de trabalhos publicados e/ou apresentados.



A G R A D E C I M E N T O S

A Direcao do Centro de Ciencias Agrarias e a todo o seu corpo docente e administrativo que apoiou a implantacao do laboratorio.

Ao Prof. MIGUEL PEDRO GUERRA, idealizador e grande incentivador das atividades desenvolvidas, pelo espirito critico e cientifico, pelo apoio e dedicacao;

Aos Professores ADEMIR REIS, APARECIDO LIMA DA SILVA, MAURICIO SEDREZ DOS REIS e RUBENS ONOFRE NODARI pelo incentivo e acuradas sugestoes ;

Aos Professores do Departamento de Engenharia Rural, do Departamento de Fitotecnia e do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela concessao do uso de material e dos laboratorios na fase inicial de nossos trabalhos.

Aos servidores : Luis Gustavo , Francisco , Maria, Miriam , Nair , Evanilda , Bernadete , Natalicio , Borsoi e outros pela colaboracao prestada,

A todos os colegas pela amizade, apoio e criticas, em especial aos que continuam o trabalho : Jose Andres Yunes, Teomar Duarte da Silva , Kyoka Honda e Daniel Uba pelo companheirismo e amizade .



S U M A R I O

1. BIOTECNOLOGIA ABORDAGEM INICIAL
2. BIOTECNOLOGIA E AGRICULTURA
3. DESENVOLVIMENTO DA BIOTECNOLOGIA E UNIVERSIDADE
4. UMA TECNICA ESPECIFICA A CULTURA DE TECIDOS
 - 4.1. DEFINICAO
 - 4.2. METODOLOGIAS
 - 4.3. TECNICAS E PRESPECTIVAS
5. LABORATORIO DE CULTURA DE TECIDOS DO CCA-UFSC
 - 5.1. OBJETIVOS
 - 5.2. HISTORICO
 - 5.3. ORGANIZACAO
6. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS
 - 6.1. MICROPROPAGACAO DO PALMITO
 - 6.2. MICROPROPAGACAO DO ABACAXI
 - 6.3. MICROPROPAGACAO DO FIGO
 - 6.4. ACOMPANHAMENTO DE OUTROS PROJETOS
 - 6.5 ORGANIZACAO DO LABORATORIO
7. CONCLUSAO
8. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA
9. ANEXOS



1. INTRODUÇÃO

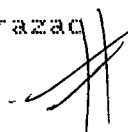
O desenvolvimento científico e tecnológico tem sido considerado como um dos fatores que permite a independência de fato de um país e que leva ao incremento no seu desenvolvimento e melhoria das condições sociais de seu povo.

O setor primário como base de toda uma economia em constante evolução, tem tido o seu papel comprovado pelos avanços obtidos a nível de produtividade e eficiência biológica, bem como no aproveitamento de novas áreas e culturas. Uma avaliação da evolução recente da agricultura, por mais superficial que seja realizada permite esta constatação.

Os benefícios e malefícios de algumas inovações tecnológicas na área agrícola, quando constatados levaram a uma série de questionamentos que hoje se antagonizam e cuja profundidade é ampliada em países como o Brasil, onde o crescimento populacional e econômico desordenado leva a contrastes e problemas gritantes. É o caso da Revolução Verde que de "ponte" de desenvolvimento preconizada na sua introdução, chega aos dias atuais sendo questionada, ou mesmo repudiada pelos mais extremistas.

Estes poderão vir a ser os dois pontos de maior impacto das técnicas oriundas da Biotecnologia. Por permitirem a adaptação de novas cultivares a solos de baixa fertilidade, ou regiões inóspitas para as cultivares tradicionais, a Biotecnologia abre-se como um instrumento para a abertura de novas fronteiras agrícolas além de maiores índices de produtividade e maior eficiência na produção animal, vegetal ou microbiana.

Quanto a independência tecnológica, esta vai ser razão



direta da capacidade empreendedora e de priorizacao de governos e instituicoes de pesquisa que viabilizem a pesquisa nesta area , formando recursos humanos e desenvolvendo tecnologia.

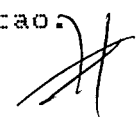
O papel que assume a Universidade neste contexto e de extrema importancia no desenvolvimento de pesquisa basica e aprimoramento de pesquisa aplicada nesta area levando a formacao de tecnicos cientifica e socialmente capacitados de forma que se obtenham resultados que permitam um real desenvolvimento da Biotecnologia no Brasil.

Como se discutira no decorrer deste , uma das principais areas de impacto da Biotecnologia e a area Vegetal, onde particularmente as tecnicas oriundas da Cultura de Tecidos Vegetais (e culminando com a Engenharia Genetica e Biologia Molecular) permitem novas opcoes para a agricultura.

E dentro deste contexto que o Centro de Ciencias Agrarias da UFSC vem desde 1984 viabilizando a implantacao do Laboratorio de Cultura de Tecidos , onde apesar do curto espaco de tempo e das dificuldades oriundas do complexo socio-economico do pais, alguns resultados comprovam a necessidade de se implementar e estruturar sua atuacao.

Ligado a um grupo de pesquisadores preocupado com a a erosao genetica da Mata Atlantica e com o risco de extinsao de numerosas especies cuja origem e dispersao se encontram primordialmente em S.C. ,os trabalhos tem sido direcionados em tres areas basicas : Nativas Florestais , Plantas Medicinais e Frutiferas de potencial economico para o Estado .

No presente relatorio iremos abordar as atividades desenvolvidas no Laboratorio e que envolveram nossa participacao.



1. BIOTECNOLOGIA - ABORDAGEM INICIAL

O termo biotecnologia é definido atualmente como um conjunto de técnicas que se utiliza de organismos vivos ou partes destes para melhorar plantas ou animais, modificar produtos ou desenvolver microorganismos para aplicações científicas.

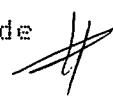
Dentro deste conceito, um grande número de técnicas que tem a sua origem mais remota poderia ser enquadrado como Biotecnologia, desde as técnicas de Melhoramento convencionais até as fermentações alcoólica ou láctica. Mas o advento da Engenharia Genética em 1953, com a descodificação do Ácido Desoxirribonucleico (DNA), e o descobrimento da estrutura básica dos fatores da herança genética a nível celular levou a uma evolução nas técnicas que hoje englobam a Biotecnologia.

O conhecimento atingido até o presente permite a manipulação do interior das células para direcionar, controlar e preservar determinadas características desejáveis.

A manipulação de organismos a nível celular pode ser caracterizada em duas áreas básicas: Fermentações e Cultura de Tecidos. No primeiro caso o aproveitamento Biotecnológico pode se dar diretamente pela produção de biomassa, fabricação de produtos, transformação ou destruição de substratos orgânicos. Na Cultura de Tecidos dá-se a manutenção de tecidos vivos "in vitro".

Surgem desta novas perspectivas para as áreas médico-farmacêutica, energética, alimentícia, bioeletrônica, controle e despoluição ambiental.

Na área de saúde o desenvolvimento da biotecnologia pode




permitir a producao de antibioticos, aminoacidos, esteroides, insulina, albumina, vitaminas, vacinas (hepatite, malaria, herpes) anticorpos monoclonais, interferons e tecidos para transplantes.

O aumento da eficiencia, pela manipulacao dos organismos envolvidos na catalizacao dos processos fermentativos, pode levar a um maior aproveitamento de residuos industriais, na producao de alcool e de outros combustiveis. A biocatalizacao, permitindo a extracao de metais ou a eliminacao de poluentes, apresenta uma importancia nao so economica como social.

A bioeletronica, como uma das muitas perspectivas que se levantam atualmente, encontra-se apenas no campo especulativo, ja que os resultados obtidos ate o momento nao permitem que se obtenham previsoes num curto espaco de tempo.

As potencialidades socio-economicas destas tecnicas, devem ser avaliadas racionalmente, pois o volume de investimentos e principalmente recursos humanos especializados devera ser realizado num curto espaco de tempo, para que os resultados, concretizando-se as tendencias atuais, sejam obtidos em 10-15 anos.

Ao se avaliar o potencial da Biotecnologia, deve se considerar que o seu desenvolvimento e os objetivos a serem visados deverao ser compativeis com as necessidades economicas de cada pais. A experiencia obtida com a Revolucao Verde deve ser avaliada e analisada cuidadosamente quando da execucao da Politica sobre Biotecnologia no Terceiro Mundo. Por outro lado estes paises nao podem ficar a margem, pois se para atingir a independencia tecnologica e necessario pesquisa, o macico investimento nesta area por empresas de grande porte, demonstra que esta sera uma das areas de maior dependencia no futuro.



2. BIOTECNOLOGIA E AGRICULTURA

Na area agricola o potencial da Biotecnologia estende-se tanto na area animal , com a producao de vacinas, e transferencia de embrioes, como na area vegetal, pelo incremento na produtividade oriundo da limpeza clonal, do surgimento de novas cultivares fitoalexinas , inseticidas biologicos. Esta tem sido uma das areas da Biotecnologia onde os avancos obtidos sao representados tanto no Brasil como em outros paises, pelo grande numero de empresas tanto publicas e privadas que operam na area, inclusive com a producao e venda de mudas e programas de melhoramento.

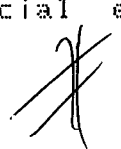
Os avancos se apresentam como a viabilizacao da ampliacao da producao mundial de alimentos, atraves do aumento da produtividade , (pelo incremento na eficiencia fotossintetica a nivel celular), tornando agriculturavel cerca de 30% da area do planeta , cujas condicoes edafo-climaticas nao permitem a sustentacao das cultivares tradicionais (desertos, regioes salinas).Pode vir a concretizar-se reducao do uso de insumos agricolas que hoje aumentam os custos da producao e sao responsaveis pela poluicao ambiental.Este fato se daria pela adaptacao das plantas ao meio e nao o inverso como esta ocorrendo na agricultura atual.

Constituindo-se na principal fonte de materias-primas para a biotecnologia e competindo com as tradicionais fontes (petroleo principalmente) , alem do suprimento de produtos "convencionais" novos produtos serao anexados pela exploracao agricola.

Estas possibilidades apresentam-se com um custo menor do que

as aplicacoes industriais ja citadas, e com um retorno a curto espaco de tempo. Por outro lado, irao caracterizar uma dependencia cada vez maior do setor de producao de sementes e poderao alterar substancialmente a estrutura social e de producao no campo, pelo que analises profundas do impacto da biotecnologia devem ser realizadas, com o estabelecimento de planos de acao .

Como a maior fonte de germoplasma mundial se encontra nos paises subdesenvolvidos e nestes que os impactos podem ser mais significativos. E dentro destes o Brasil pela alta diversidade genetica em suas florestas apresenta-se como um dos paises de maior colecao de germoplasma , aumentando o potencial e a justificativa de se implementar esta tecnologia.



3. DESENVOLVIMENTO DA BIOTECNOLOGIA E UNIVERSIDADE

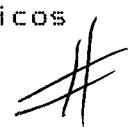
Dentro da Biotecnologia, a necessidade de recursos humanos e tecnologias nacionais é gritante. Ora, a Universidade não deve ser mero mecanismo de transmissão do Saber, mas deve ser geradora de conhecimentos e tecnologias.

Por outro lado, o processo de interação que tem-se delineado nos últimos anos entre a ciência e a tecnologia, tem demonstrado que é impossível se pensar em novos processos tecnológicos, sem unir a universidade às instituições de pesquisa.

Nela a ciência básica deve ser apoiada pois se constitui num patrimônio cultural e é um instrumento central, pelo seu poder analítico e crítico, na compreensão e resolução independente dos problemas que a sociedade coloca. Agindo de forma autônoma a universidade deve propor os mecanismos que permitam um desenvolvimento científico e tecnológico, possibilitando a resolução dos problemas mais cruciais da sociedade brasileira.

Segundo GUERRA (1986), para que seja viável o desenvolvimento científico (considerando este como os processos que permitem a evolução da ciência fundamental), devem ser avaliados quatro pontos básicos dentro de uma universidade: cientistas capacitados, informação científica, pessoal de apoio competente e equipamentos adequados.

Desta forma para que uma das áreas de pesquisa de ponta na área agrícola se desenvolva é necessário estruturar mecanismos que permitam a capacitação técnica, tanto de docentes, como de discentes e corpo de apoio, para que os resultados científicos sejam condizentes com o investimento social realizado.



4. UMA TECNICA ESPECIFICA - A CULTURA DE TECIDOS.

4.1. DEFINICAO

A cultura de Tecidos baseia-se no principio da totipotencialidade celular , onde a celula e a unidade estrutural basica de todo o ser vivo e tem potencialidade total como unidade fisiologica e de desenvolvimento possuindo toda a informacao necessaria para se desenvolver num organismo.

A celula tem capacidade atraves de reacoes quimicas produzir ligacoes fosfatadas , ricas em energia (ATP ,ADP) assim como realizar processos de biossintese de macro e megamoleculas utilizando-se desta energia.

O ATP e DNA, unidades quimicas e biologicas presentes nas celulas propiciam, ao se colocar prtes de tecido vivo em meio de cultura apropriado ,estes desempenhem funcoes proprias em periodos muitas vezes superiores ao proprio ciclo de vida do proprio organismo.

A cultura de Tecidos e definida assim como a tecnica de cultivo de plantas, partes de plantas ou partes de animais, propiciando a reducao do organismo a seus constituintes celulares ou na obtencao de complexos multicelulares.

4.2. METODOLOGIAS

Os fenomenos morfogenicos observados "in vitro" resultam da diferenciacao, dediferenciacao ou rediferenciacao do explante (parte da planta inoculada) e podem ser agrupados quanto ao

#

mecanismo de regeneração (morfogênese via direta ou indireta), e ao grau de organização atingido (embriogênese, organogênese).

Para que este processo se efetive, alguns fatores devem ser considerados: a fonte de explante, o meio de cultura e condições ambientais apropriadas. Quanto a fonte de explante, são classificadas dentro de três classes: cultivo de massas celulares, cultivo de células, cultivo de tecidos a partir de embriões, anteras, ovários, raízes, gemas ou outros tecidos.

Para a obtenção de um protocolo para determinada espécie, devem ser contemplados os seguintes estágios: Estabelecimento de uma cultura aséptica, multiplicação dos propagulos, preparação da planta para reestabelecimento no solo. Em cada uma destas etapas os requerimentos nutricionais (macro e micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, sacarose, reguladores de crescimento e água) e ambientais (temperatura, umidade, radiação, fotoperíodo) serão função da espécie, da fonte de explante e do objetivo a que se propõe o trabalho.

4.3. TÉCNICAS E PERSPECTIVAS

A cultura de Tecidos é sub-dividida consoante a fonte de explante ou a técnica a ser empregada em: cultura de callus, meristemas, embriões, obtenção de haploides, cultura de protoplasto e engenharia genética ou DNA recombinante.

O callus é definido como um tecido não organizado, formado por células regularmente diferenciadas que se multiplicam desordenadamente. As culturas de callus não correspondem a nenhum tecido de desenvolvimento normal da planta, mas de proliferação

de explantes induzida pela injuria das celulas na incisao .

Inicialmente as culturas foram empregadas em estudos morfológicos e de crescimento, na preservacao de germoplasma e na fonte de material para fusao protoplasmatica e transferencia de DNA. Alguns trabalhos de avaliacao de doencas e formacao de plantas resistentes tem tido bons resultados.

Nos callus, pela alta taxa de alteracoes somaticas que ocorrem, o maior emprego esta na exploracao desta variabilidade, com excessao para as monocotiledoneas, onde algumas formas de callus apresentam alta estabilidade.

A cultura de meristemas consiste em isolar os meristemas e propaga-los vegetativamente em meio de cultura apropriado.

As principais aplicacoes deste sistema sao : eliminacao de viroses, e outros patogenos , estudos da acao destes patogenos isolamento de toxinas liberadas , aspectos de mutualismo e simbiose entre os organismos, preservacao de germoplasma e propagacao clonal rapida. E o processo que tem atualmente o protocolo ja desenvolvido para o maior numero de especies, e cujos resultados ja estao sendo aplicados a nivel comercial , na obtencao de porta-enxertos e variedades copa para numerosas frutíferas (maca, pera, ameixa, pessego, videira, banana, abacaxi , abacate entre outras) , mudas ou sementes de alta qualidade sanitaria e elevando a producao (morango, batata, aipim,) e na manutencao , preservacao e intercambio de germoplasma.

A cultura de anteras, ovario nao fecundado e polen propicia a obtencao de plantas haploides. Esta haploidia e empregada em programas de melhoramento da seguinte forma:

-avaliacao de genes recessivos e mutacoes em (pela obtencao

de plantas haploides ou duplo-haploides) ;

- obtencao de plantas haploides ou linhagens para programas especificos ;

- reducao da duracao de programas pela fixacao de genes.

A forma de inducao da-se por dois caminhos : polen-embrioi-de-planta , ou polen-callus planta. As vantagens de obter haploides pela cultura de tecidos sao :

- o numero de plantas haploides obtidas e ilimitado quando a tecnica for corretamente adaptada para as especies,

- a cultura de tecidos e apropriada para viabilizar tecidos que nao seriam viaveis na natureza;

- partindo do polen e possivel observar num sistema simples o efeito citoplasmatico de um cruzamento (tamanho de organelas , alteracoes em sua constituicao, pareamento e anormalias cromossomicas).

A cultura de embriao permite estudos morfologicos da planta em relacao a seu desenvolvimento, eliminar a dormencia de sementes ou embrioes reduzindo o tempo de de melhoramento desde a polinizacao ate a germinacao, estudos fisiologicos da vernalizacao e germinacao em sementes e embrioes, estabelecimento de sistemas para estudos de genetica molecular, producao de aneuoploides ou tetraploides, , facilitar a hibridizacao interespecifica ou intergenerica entre generos e especies incompativeis , e assegurar a preservacao de germoplasma pela cryoconservacao (conservacao a baixas temperaturas).

Dentro das tecnicas mais avancadas , a cultura de protoplasto , propiciando o desenvolvimento das celulas removendo a parede celular por processos enzimaticos, possibilita estudos



morfologicos e obtencao de hibridos pela fusao protoplasmatica.

Devido a perda da heranca citoplasmatica durante o processo de fusao de protoplastos, um direcionamento maior tem sido dado a transferencia de DNA. A manipulacao de DNA recombinante, propiciando a alteracao genetica de individuos, iniciou-se com o descobrimento de um grupo de enzimas, as endonucleases restritivas que dividem o DNA em sequencias especificas, permitindo o mapeamento genetico. A partir de fragmentos de DNA de dois ou mais organismos, torna-se possivel a sintese ou hibridizacao de moleculas hibridas.

Pela dificuldade de se manipular microorganismos, alem do aspecto etico que esta tecnica engloba, um grande destaque tem sido dado quanto a sua aplicacao na area vegetal. Nesta, algumas aplicacoes ja foram comprovadas e avaliadas em seu potencial, como o aumento proteico em sementes para consumo humano ou animal, fixacao de nitrogenio, resistencia a pragas e doencas, aumento da eficiencia fotossintetica de plantas C3 pela introducao das caracteristicas das plantas C4, tolerancia a situacoes de stress e finalmente o surgimento de novas cultivares.

A obtencao de embrioides somaticos, e uma das tecnicas mais pesquisadas. Independente do processo utilizado, a regeneracao final da planta, se daria nao na forma de muda mas sim de embrioides ou embriao somatico, permitindo a manutencao do sistema produtivo atual por sementes, ja que estes embrioides, quando protegidos por uma camada membranosa permitiriam o seu plantio dentro dos moldes tradicionais.

#

5. LABORATORIO DE CULTURA DE TECIDOS DO CCA-UFSC

5.1. OBJETIVOS

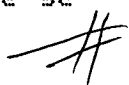
Estabelecer protocolos para a propagacao "in vitro" de especies de interesse, com enfoque para a pesquisa em plantas nativas da Mata Atlantica , viabilizando o uso de tecnicas biotecnologicas na preservacao e melhoramento destas.

5.2. HISTORICO

A idealizacao do Laboratorio surgiu com o Projeto Nativas Florestais, financiado pelo FINEP, onde a necessidade de se propagar especies por metodos nao convencionais e de se estudarem as caracteristicas ecofisiologicas de algumas especies levou a construcao de um fitotron, em area anexa ao atual Departamento de Engenharia Rural. Este fitotron, apresenta temperatura, fotoperiodo, luminosidade e umidade controlada, tendo sido projetado e instalado pelo Eng. Paulo da Prefeitura Universitaria, o que e bastante significativo, ja que os similares eram importados.

Com o projeto Palmito-Manejo e Melhoramento , financiado pelo FINEP deu-se inicio aos trabalhos de cultura de Tecidos, com a utilizacao dos Laboratorios de Microbiologia do Solo , Solos , fitopatologia e Bromatologia (mesa de fluxo laminar). Este projeto permitiu a aquisicao de material (vidrarias e reagentes) e a montagem da camara de crescimento.

Os Projetos Canela-sassafras (CNPq) e Mandevilla velutina (FINEP) permitiram a aquisicao de equipamentos iniciais e que se



permita projetar uma expansao e a efetivacao deste laboratorio.

Desta forma e possivel concluir que as atividades desenvolvidas ate o momento foram fruto do trabalho conjunto e da visao global de universidade no CCA, no que respeita ao desenvolvimento de pesquisa.

5.3. Organizacao

O Laboratorio tem como recursos humanos envolvidos atualmente em suas atividades :

Prof. Miguel Pedro Guerra (Coor. atualmente em curso de doutorado)

Prof. Aparecido Lima da Silva (Coordenador em exercicio)

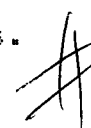
Prof. Mauricio Sedrez dos Reis

Prof. Enio Luis Pedrotti

Prof Shiew Show lin (atualmente em curso de pos-doctor)

Prof. Ana Viana

As atividades desenvolvidas tem como clientela Docentes pesquisadores e discenttes do Depto de Fitotecnia e Horto Botanico /UFSC ; estagiarios de outras instituicoes de Pesquisa e/ou ensino e pesquisadores de outras instituicoes.



6. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

6.1 MICROPROPAGACAO DE PALMITO

6.1.1. Introducao

O Palmitreiro (*Euterpe edulis*), especie nativa da Mata Atlantica, e de grande importancia economica para o Estado em funcao da extracao do miolo para comercializacao. A exploracao desenfreada, aliada ao intenso desmatamento da floresta, levou ao risco de extinsao para esta planta e a erosao genetica na sua regio de origem.

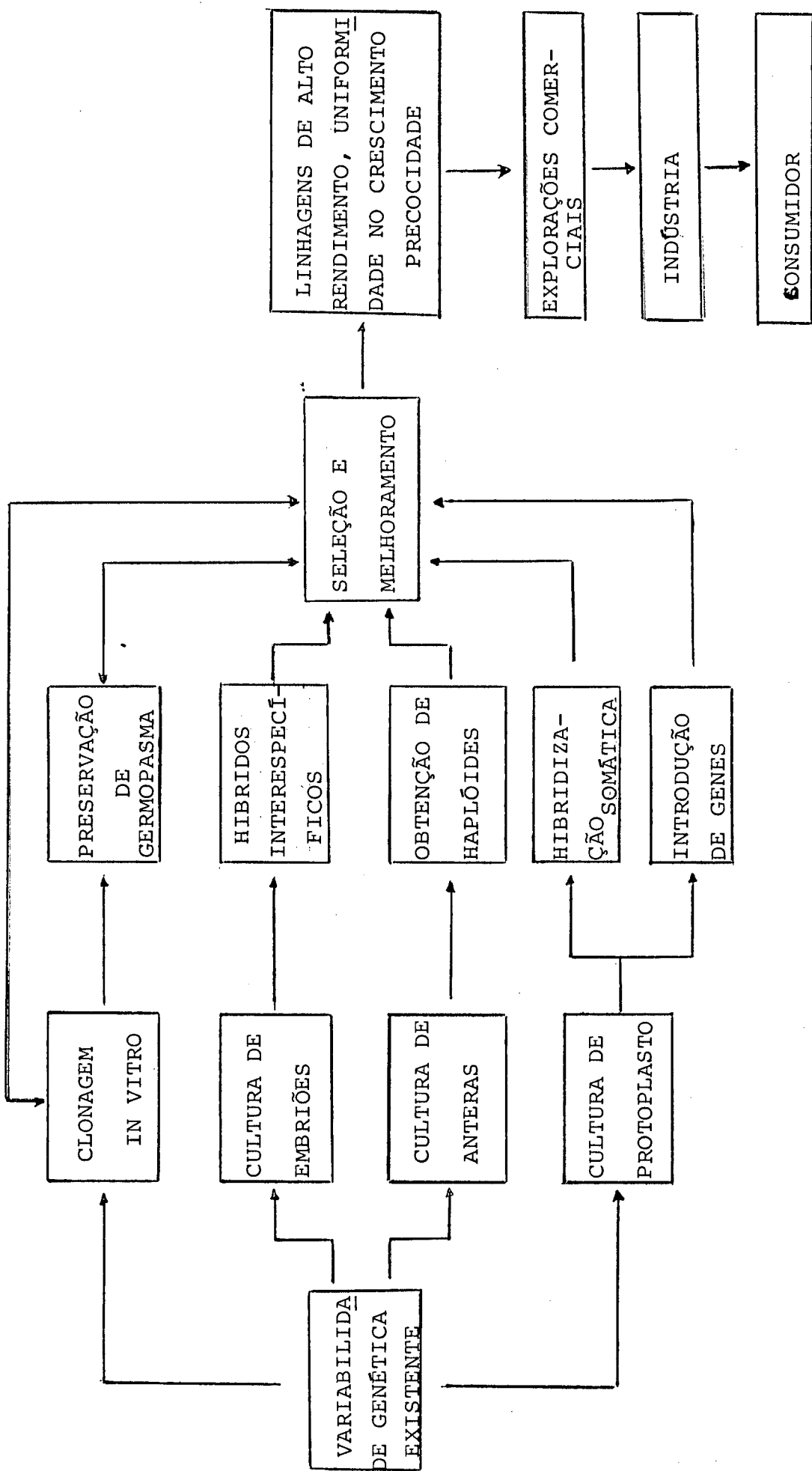
Num projeto coordenado pelo Prof. Rubens Nodari, tem se buscado estudar o seu comportamento ecofisiologico, buscando-se alternativas que permitam a sua exploracao comercial, atraves de programas de Manejo Sustentado (exploracao racional da Mata como um todo) melhoramento (pela avaliacao de genotipos, procedencias e programas especificos).

A cultura de tecidos caracterizou-se neste caso como mais uma tecnica adicional ao Melhoramento convencional ja que permite a propagacao vegetativa, que pelas caracteristicas morfofisiologicas da especie se tornaria inviavel por outras tecnicas. Na tabela e possivel se avaliar as perspectivas que a cultura de tecidos viabilizara, uma vez estabelecidas as tecnicas basicas.

Os estudos baseiam-se na determinacao de protocolos sequenciais que possibilitem a regeneracao de plantas consoante a fonte de explante a ser empregada.

Pelas caracteristicas e pela bibliografia classica referente a

QUADRO 1. Uso das técnicas "in vitro" visando o melhoramento do palmitheiro



cultura de tecidos que seleciona as diferentes fontes de explante e o seu potencial morfogenico , foram utilizados embrioes, folhas jovens, meristemas apicais e radiculares e inflorescencias.

6.1.2.Avaliacao do Potencial Morfogenico "in vitro " dos Embrioes

6.1.2.1.Avaliacao do Metodo de Desinfestacao

Foram testados dois tratamentos basicos:

1. Retirada do Embriao, desinfestacao com alcool a 70% durante 30 segundos e posterior imersao em hipoclorito de sodio a 2,4% durante 10 minutos.

2. Desinfestacao da semente de forma semelhante a anterior e posterior retirada do embriao.

O primeiro processo mostrou-se altamente negativo pois os embrioes tornavam-se mais susceptiveis a oxidacoes e com menor potencial " in vitro" . Dada a eficiencia na desinfestacao do segundo processo , optou-se por esta.

6.1.2.2.. Cultura "in Vitro"

Apos a desinfestacao das sementes, os embrioes foram retirados das mesmas e inoculados em meio MURASHIGE & SKOOG (MS) modificado para mio-inositol (100mg/l) ,acido nicotnico (1,0mg/l) piridoxina.HCl (1,0 mg/l) tiamina (1,0 mg/l) biotina (0,01 mg/l) e pantetonato de Calcio (1,0 mg/l))

Num primeiro estagio buscou-se determinar a composicao nutritiva do meio e o seu efeito no crescimento e desenvolvimento normal do embriao , bem como um possivel efeito inibitorio do carvao ativado ou dos anti -oxidantes. Foram usados diferentes

#

concentrações de açúcar (sacarose, sucrose) bem como de N (incremento de NH_2PO_4 em relação a KNO_3). Para ambos os casos não se notaram diferenças entre os tratamentos resultando em todos num perfeito desenvolvimento e crescimento das plantulas sem qualquer sintoma aparente de deficiência nutritiva comparado com plantas germinadas no solo.

Num segundo passo foi realizado o isolamento de embriões em meio básico de MS modificado e com concentrações variáveis de reguladores. A ausência inicial de redutores (ácido ascórbico, ácido cítrico e cisteína) ou de fixadores (carvão ativado) prejudicou as avaliações iniciais dos meios, já que ocorreu oxidação e posterior necrose dos explantes. Este fenômeno ocorre pela liberação de fenóis nos tecidos, que uma vez em concentrações muito elevadas tornam-se letais. Quando a fonte de auxina era o ácido naftaleno acético (ANA) ou quando foram utilizadas concentrações elevadas de Benzilaminopurina (BAP) esta condição foi observada com mais intensidade.

As culturas mantidas no escuro mostraram viabilidade durante um período maior de tempo. A repicagem consecutiva para tentar eliminar ou reduzir os problemas de oxidação não foi efetiva e reduziu o desenvolvimento dos explantes. A colocação de carvão ativado aliado ao uso de meio líquido e redução de 8g/l de agar para 6g/l, levou ao desenvolvimento dos embriões, caracterizando-se inicialmente pelo entumescimento dos tecidos e posterior formação de callus.

Dentro dos tratamentos mostrou-se mais efetivo a utilização de 2,4-D em relação a outras auxinas, principalmente nas concentrações de 50 a 100 mg/l. Nestes meios notou-se a formação

de callus que uma vez repicados para meios contendo ANA (10 mg/l) levou a formacao de um sistema radicular multiplo sem organogenese.

6.1.3.Avaliacao do Potencial Morfogenico das Raizes

6.1.3.1.Avaliacao do Metodo de Desinfestacao

Os apices radiculares apresentam um alto potencial morfogenico " in vitro", tanto pela forma de crescimento definido que assumem ,quanto pela grande disponibilidade de material e pela rapida resposta "in vitro".

O objetivo de obter um metodo que seja adequado a utilizacao de raizes de plantas a campo como fonte de explante levou a implantacao de uma serie de experimentos visando a determinacao do metodo mais eficiente.

Dentro dos tratamentos realizados ate o presente nao houve eficiencia da desinfestacao , pelo que optou-se pelo uso de sementes de plantas germinadas assepticamente.

6.1.3.2. Cultura "in vitro"

O problema da grande contaminacao dos apices radiculares dificultou a obtencao de culturas assepticas .

Nos explantes oriundos de sementes germinadas assepticamente as formulacoes determinadas para os meios liquidos tem se mostrado efetivas no controle da oxidacao , sendo que apos duas semanas de inoculacao o tecido se alonga e entumesce., principalmente nos meios contendo 2,4-D.

Uma vez isolados notou-se dois comportamentos diferenciados

quando em concentrações baixas de 2,4-D o tecido se alonga normalmente sem a formação de pelos ou raízes secundárias. Em altas taxas de 2,4-D ocorre a formação de pequenos callus.

6.1.4. Avaliação do Potencial Morfogênico das Folhas

6.1.4.1. Avaliação dos Métodos de Desinfestação

Procurou-se testar o comportamento das folhas, base do peciolo e regiões do caule aos métodos convencionais a estes tecidos e ajustá-los para a perfeita assepsia do material. Assim, considerando-se os métodos citados por HENKE & HUGHES (1985) foi empregada a imersão em álcool 70 % durante 20 segundos seguido de hipoclorito de Sódio a 2,4% durante 10 minutos e cinco rinsagens em água bidestilada e esterelizada. Um segundo tratamento foi empregado constando de limpeza superficial com álcool absoluto 96 GL durante 10 minutos e retirada das folhas mais externas antes da inoculação sob condições asépticas. Após os tratamentos foram feitos cortes e inoculados em meio MS.

Os métodos testados mostraram-se eficazes para a desinfestação, embora a utilização do hipoclorito leve a uma rápida dessecação e necrose, pelo que dificulta o isolamento de tecidos vivos. Ao se proceder aos cortes dentro de uma solução contendo ácido ascórbico a 0,5% e cobrindo superficialmente o tecido do explante durante o processo de preparação é possível o controle da dessecação e a inoculação do explante em condições propícias ao seu desenvolvimento.

6.1.4.2. Cultura "in vitro"

As folhas jovens apresentam como característica o cresci-

mento indefinido, encontrando-se zonas de maior potencial junto as nervuras e base da folha. Pelas características do palmiteiro torna-se necessário ainda determinar as dimensões do explante bem como avaliar o fator juvenildade no desenvolvimento "in vitro".

Com estes objetivos foram inoculados explantes em meio MS empregando diferentes concentrações de reguladores de forma a se combinar o efeito do 2,4-D e ANA com 2iP, KIN e BAP.

O desenvolvimento da cultura "in vitro" se dá principalmente das folhas mais internas onde ocorre a formação de callus de coloração clara que tornam-se clorofiladas e de estrutura globulosa. Esta segunda forma apresenta-se mais homogênea em meio sólido, enquanto que os callus iniciais, mais friáveis apresentam uma manutenção mais efetiva em meio líquido.

Estão sendo realizados novos testes buscando-se a embriogênese dos callus globulosos pela alteração nos reguladores de crescimento, principalmente auxinas como sugere PANNETIER (1986)

6.1.5. Avaliação do Potencial Morfogênico do Meristema Apical

6.1.5.1. Avaliação dos Métodos de Desinfestação

O resultado já obtido com outras fontes de explante levou a que fossem realizados apenas os testes com a utilização de Hipoclorito de Sódio e Alcool e uma vez comprovada a sua eficiência, procedeu-se a sua aplicação como rotina laboratorial.

6.1.5.2. Cultura "in vitro"

A cultura de meristemas é a de maior potencial de resposta

"in vitro" (MURASHIGE, 1974). Neste aspecto buscou-se determinar o meio que permitisse o seu desenvolvimento.

Dentro dos meios empregados, notou-se um desenvolvimento bem diferenciado. Em concentrações menores que 10 mg/l de 2,4-D ocorre desenvolvimento normal de gema resultando em organogênese sem regeneração do sistema radicular. Em concentração variável de 25 a 50 mg/l de 2,4-D sem citocinina dá-se a formação de callus friáveis que rapidamente necrosam ao serem repicados. Em concentrações superiores a 150 mg/l de 2,4-D verificou-se a necrose dos tecidos.

6.1.6. Avaliação do Potencial Morfogenico das Inflorescencias

6.1.6.1. Avaliação dos Metodos de Desinfestação

Apresentando-se em diferentes estagios de desenvolvimento na planta e com grande disponibilidade de material o uso das inflorescencias não implica na destruição da planta matriz permitindo a clonificação de plantas superiores com a manutenção da mesma.

Na desinfestação foram realizados dois procedimentos:

1. Retirada das inflorescencias, colocação destas numa solução de ácido ascórbico (5g/l) com posterior desinfestação em Hipoclorito de Sódio a 2,4% e 5 lavagens em água esterilizada.

2. Desinfestação da parte mais externa das espátas com álcool absoluto 96 GL durante 10 minutos em toda a superfície e posterior retirada dos tecidos sob condições asépticas de forma que não ocorresse o contato das superfícies mais externas com as inflorescencias.

Esta segunda metodologia mostrou-se mais eficiente, desde

que não houvesse danos ou rachaduras nas espadas que permitissem a entrada de microorganismos.

6.1.6.2. Cultura "in vitro"

Visando o desenvolvimento "in vitro", a obtenção de estruturas morfogênicas e a determinação do estágio de crescimento ideal foram inoculados explantes de inflorescências em meio básico MS modificado em concentrações variáveis de 2,4-D e 2iP, tendo sido bloqueados o desenvolvimento da inflorescência e a localização do explante em relação ao raquis. Foram empregados 20 tratamentos diferenciados quanto aos reguladores, em meio líquido e sólido.

Os resultados iniciais demonstram uma maior eficiência no controle da oxidação e no entumescimento dos tecidos nos meios líquidos. Apesar de repicagens periódicas dos explantes em meio sólido não houve eficiência no controle da oxidação, ocorrendo a necrose dos tecidos em 50 dias.

Após um período de 3 meses em meio líquido os explantes foram repicados para meio sólido contendo 6g/l de agar. Nestes foi possível até o presente observar a formação de callus na base do corte dos explantes e na região basal das flores, onde estes apresentam seu maior desenvolvimento. Com estes resultados espera-se com a alteração dos meios obter a orientação da morfogênese

6.1.7. Considerações

O estabelecimento de um protocolo para o palmito é um processo extremamente dinâmico, onde diariamente são acrescentados novos conhecimentos. Pelos resultados obtidos demonstram-se dois fatos que já foram discutidos para as palmáceas por diversos autores. O

desenvolvimento dos explantes e extremamente lento e envolve uma serie de fatores ainda pouco esclarecidos.

Apesar da dificuldade de se trabalhar com culturas "in vitro" de palmaceas, muitos passos ja foram dados o que e comprovado pela obtencao de callus.

Considerando-se que, segundo BLAKE(1983) a morfogenese direta em palmaceas e de dificil ocorrencia, e que as plantas regeneradas destes callus apresentam estabilidade genetica, os resultados obtidos sao altamente promissores. Estes demonstram que uma vez vencidas algumas etapas, e com o apoio que uma pesquisa desta natureza engloba, sera viavel a regeneracao de plantas, objetivo desta primeira etapa dos trabalhos envolvendo o palmitreiro.

6.2. MICROPROPAGACAO DO ABACAXI

6.2.1. Introducao

O Abacaxi (*Ananas comosus*) e uma das especies frutiferas cuja plantio no estado, apesar do enorme potencial de mercado tem vindo a decair, em funcao principalmente da grande incidencia da Fusariose ou Gomose (*Fusarium moliniforme* L.) nas regioes de plantio, que pela rapida disseminacao e capacidade de permanencia no solo provocou o rapido declinio da abacaxicultura. Este fato aliado a inexistencia de mudas de sanidade comprovada tem restringido esta cultura no estado.

A propagacao "in vitro" permite que se obtenham um grande numero de mudas de alta qualidade num curto espaco de tempo e com a vantagem adicional de serem totalmente isentas de *Fusarium*.

O protocolo basico para esta cultura foi desenvolvido por



ZEPEDA & SAGAWA (1981) que obtiveram um numero superior a 5.000 mudas um prazo de 12 meses.O CNPFT -EMBRAPA desenvolveu a micro-propagacao em seu laboratorio, embora a eficiencia na taxa de multiplicacao fosse relativamente baixa.

No nosso laboratorio buscamos obter uma composicao mais adequada na formulacao do meio de multiplicacao que permitisse maximizar a obtencao de mudas para posteriores plantios comerciais.

A selecao pelo CNPF-EMBRAPA (Cruz das Almas) de duas novas cultivares, a 'Perolera' e a 'Primavera' resistentes a Fusariose levou a intensificacao do trabalho, buscando-se taxas de propagacao que permitissem testes de competicao , viabilizando a introducao destas no estado, adequando o protocolo obtido para a cultivar 'Smooth Cayenne '.

6.2.2. Avaliacao dos Meios de Multiplicacao

Utilizando-se o meio de Murashige & Skoog, foi realizado um experimento fatorial com 20 repeticoes por tratamento, envolvendo os reguladores de crescimento ANA e BAP. As gemas laterais, usadas como explante, foram extraidos de plantas adultas da cultivar 'Smooth Cayenne', sofrendo uma desinfestacao previa e posterior isolamento nos meios de crescimento.

Dos meios utilizados, demonstrou ser mais eficiente o meio MS com 5mg/l de BAP, que proporcionou uma taxa 8 vezes superior a obtida com o meio empregado pela EMBRAPA e usado como testemunha.

Este experimento permitiu que se desenvolvessem no Laboratorio todas as tecnicas e rotinas laboratoriais que permitem a realizacao de novos estudos com as duas novas cultivares, trabalho que esta sendo desenvolvido atualmente pelo aluno Daniel Uba.



6.3. MICROPROPAGACAO DO FIGO

6.3.1. Introducao

A cultura da figueira (Ficus carica) vem sofrendo incremento de cultivo em boa parte dos estados brasileiros e consolida-se como uma boa opcao para a ampliacao e oferta de produtos frutiferas nos mercados interno e externo, bem como pode propiciar um bom retorno ao produtor.

Um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores e a falta de material de propagacao de boas caracteristicas genetica e sanitaria. Como a propagacao e feita por estacas, mudas enraizadas e rebentoes ou filhotes sao comuns problemas de dissiminacao de nematoides (Meloidogyne incognita e Modera ficis) ; virus e algumas molestias, como o enfezamento dos ramos (PEREIRA,1981).

Por outro lado como a densidade de plantio e alta e os pomares sao renovados com intensidade maior que outras frutiferas e necessario que se disponha de um grande numero de mudas para novos plantios e reposicoes.

Dos modelos morfogeneticos que ocorrem em tecidos cultivados "in vitro" a cultura de meristemas e a de maior viabilidade para esta especie, pois assegura a uniformidade genetica da planta a ser propagada, ao mesmo tempo que permite a limpeza clonal ,eliminando virus e outros organismos sistemicos e permite obter com rapidez um grande numero de plantas.

As escassas referencias bibliograficas de micropropagacao, levou a que se busca-se desenvolver tecnicads para a cultivar 'Roxo de Valinhos '.

6.3.2. Estabelecimento do protocolo

Foram realizadas tres etapas basicas : Estabelecimento da cultura asseptica, mantendo-se a viabilidade dos explantes, multiplicacao e enraizamento das plantulas obtidas.

Foram realizados tres experimentos basicos em cada uma das etapas , envolvendo tratamentos diferenciados quanto aos reguladores de crescimento (ANA e BAP) num delineamento fatorial completamente casualizado, com 20 repeticoes por tratamento.

Diferentes respostas morfogeneticas foram observadas como resultado das variacoes quanto as fontes e niveis de reguladores adicionadas ao meio, bem como as condicoes de manutencao das culturas. Foram obtidos callus bem friaveis, cujo maior potencial se encontra na exploracao da variabilidade induzida "in vitro para programas de melhoramento.

O meio MS adicionado de 1mg/l de BAP ; 0,01 mg/l de ANA e 0,5 mg/l de GA3 levou a formacao de gemas multiplas, que foram enraizadas no meio MS com reducao de macro e micronutrientes e adicao de 0,1 mg/l de ANA. Estes resultados encontram-se descritos com maior detalhe no trabalho publicado . (anexo).

6.4 ACOMPANHAMENTO DE OUTROS PROJETOS

Conjuntamente com a execucao dos trabalhos ja relacionados, tivemos a oportunidade de acompanhar o desenvolvimento das atividades referentes a Canela Sassafras (Ocotea pretiosa) e a Jalapa (Mandevilla velutina), desde a fase de elaboracao ate a execucao, que esta se desenvolvendo no presente.



6.5. ORGANIZACAO DO LABORATORIO

A organizacao de um laboratorio desta natureza exige algumas peculiaridades , ja que a contaminacao deve ser reduzida ao minimo e deve ser funcional para as atividades desenvolvidas.

As atividades desenvolvidas envolveram desde os aspectos de organizacao dos equipamentos e vidrarias, procurando-se adequar em funcao do espaco fisico existente e do coeficiente de uso destas, ate a elaboracao de fichas de controle de estoque, vidrarias reguladores.

A area existente foi dividida em 3 salas basicas : Sala de limpeza e preparo de meios, Sala para transferencia e armazenamento e Sala de crescimento. Nestas procurou-se adequar as atividades para que se obtivesse o maximo rendimento.



7. CONCLUSAO

Os objetivos que levaram a realizacao deste estagio foram altamente compensatorios, dado o aprendizado tecnico e cientifico que permitiu e ao acompanhamento das metodologias que envolvem as pesquisas nesta area.

Assim, por um lado o aluno e estimulado a um maior aprofundamento, tanto na area que concerne, como nos outros aspectos que envolvem a vida academica, permitindo a integracao entre o ensino teorico e pratico, atraves da valorizacao das atividades de pesquisa.

A participacao efetiva em projetos de pesquisa, onde a capacidade empreendedora e estimulada, permite que o aluno seja um membro atuante da pesquisa desenvolvida dentro da universidade, que conheca tanto o rigor cientifico como o valor social da ciencia.

#

8.BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

BLAKE, J. 1983. Tissue culture propagation of Coconut, date and oil palm. In : (ED.) DODD, G.H. Tissue Culture A. Trees. Wetpoint. The Avi .Pub. Comp. p. 29-50

CALDAS, L.S. 1978. tissue Culture application with respect to forest trees, Plant tissue methods and application in agriculture . New York. Academic Press.

CRESSWEL, R.; NITSH, C. 1975. Organ culture of (Eucalyptus grandis) Planta. 125:87-90.

GAMBORG, O.L.; MURASHIGE, T.; THORPE, T.A.; VASIL, I.K. 1976. Plant Tissue culture media. In Vitro, 7:(12).

JONES, L.H. 1974. Propagation of Oil Palms by Tissue Culture. Oil Palm News. 17: 1-9.

MURASHIGE, T. 1974. Plant Propagation through Tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25:135-66.

VIETZ, A.M. ; GONZALES, M.L. VIETEZ, E. 1978. In Vitro Culture of Cotyledon of Castanea sativa Scientia Horticulturae 8:243-47

WISSERAT, B. 1981. Propagation of Date Palm Tissue Culture. U.S.D.A. Agricultural Research Service Science and education Administration. AAT-W. 17 450 p.

ZEPEDA, C.; SAGAWA, Y. 1981. In vitro propagation of pineapple. Hart Science, 16:495.

9. ANEXOS

9.1. Estagios e Treinamentos

Os estagios abaixo relacionados permitiram a assimilacao de novas tecnicas e rotinas laboratoriais que puderam ser aplicados e adaptados as condicoes de trabalho do Laboratorio de Cultura de Tecidos do CCA-UFSC. A possibilidade de discutir e abordar os aspectos teoricos permitiu a troca de informacoes e levou ao incremento do conhecimento, alem do acesso a novas bibliografias auxiliando na complementacao das atividades desenvolvidas.

9.1.1. Titulo: ESTAGIO DE CAPACITACAO EM CULTURA DE TECIDOS

- a) Local : Laboratorio de Cultura de Tecidos
- b) Objetivos: Propiciar o dominio das tecnicas e rotinas laboratoriais
- c) Instituicao : Centro Nacional de Pesquisa de Fruteiras de Clima Temperado CNPFT-EMBRAPA
- d) Orientador : Dr. Marcio de Assis
- e) Data : Outubro a Novembro de 1985
- f) Duracao : 20 dias

9.1.2. Titulo :ESTAGIO DE COMPLEMENTACAO EM CULTURA DE TECIDOS

- a) Local : Laboratorio de Cultura de Tecidos
- b) Ojetivos : Propiciar o dominio das Tecnicas de Indexacao e teste de Elisa para avaliacao de plantas propagadas "in vitro"
- c) Instituicao : Centro Nacional de Pesquisa de Fruteiras de Clima Temperado CNPFT-EMBRAPA

- d) Orientador : Dr. Peters
- e) Data : Fevereiro de 1986
- f) Duracao : 20 dias.

9.1.3. Titulo : ESTAGIO DE CAPACITACAO

- a) Local : Laboratorio de Cultura de Tecidos
- b) Objetivos : Propiciar o dominio das tecnicas de Cultura de tecidos em monocotiledoneas (banana e dende) e o contato com as tecnicas de isolamento e cultura de protoplasto.
- c) Instituicao : Centro Nacional de Recursos Geneticos CENARGEN-EMBRAPA.
- d) Orientador : Dr. Frederic Bakry- Consultor
- e) Data : Julho de 1986
- f) Duracao : 20 dias.

9.1.4. Titulo : ESTAGIO DE CAPACITACAO

- a) Local : Laboratorio de Citogenetica
- b) Objetivos: Propiciar o contato com a cultura de anteras de trigo , permitir o treinamento nas tecnicas de contagem cromossomica e avaliacao da estabilidade meiotica.
- c) Instituicao : Centro Nacional de Pesquisa de Trigo CNPT-EMBRAPA
- d) Orientador : Dr Maria Irene Moraes Fernandes
- e) Data : Janeiro de 1987
- f) Duracao : 15 dias

9.2.Cursos, Congressos e Simposios de Relevancia com as
Atividades do Presente Relatorio

9.2.1. a) Titulo : II CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIACAO
CIENTIFICA EM CIENCIAS AGRARIAS

b) Local : Florianopolis S.C.

c) Data : 10 A 15 de Setembro de 1983

9.2.2. a) Titulo : VII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA

b) Local : Florianopolis S.C.

c) Data : 25 A 29 de Julho de 1983

9.2.3. a) Titulo : SIMPOSIO IMPACTO DA BIOTECNOLOGIA NA
AGROPECUARIA

b) Local : Pelotas R.S.

c) Data : 29 a 31 de Outubro de 1985

9.2.4. a) Titulo : CURSO AUTOMACAO EM SINTESE E SEQUENCIAMENTO
DE BIOMOLECULAS

b) Local : Curitiba PR.


c) Data : 16 a 17 de Junho de 1986

d) Duracao : 16 hs

9.2.5. a) Titulo : XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA
SIMPOSIO LATINO-AMERICANO DE VIROLOGIA

b) Local : Brasilia D.F.

c) Data: 13 a 18 de Julho de 1986

- 9.2.6. a) Titulo : SIMPOSIO SOBRE O USO DE BIOTECNOLOGIA EM
FRUTICULTURA
b) Local: Campinas S.P.
c) Data : 2 a 3 de Outubro de 1986
d) Duracao : 16 hs
- 9.2.7. a) Titulo : V SEBIAGRI BIOTECNOLOGIA FLORESTAL-
PERSPECTIVAS E APLICACOES
b) Local : Piracicaba S.P.
c) Data : 29 a 30 de Outubro de 1986.
- 9.2.8. a) Titulo : XXXVIII CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE
BOTANICA DO BRASIL
b) Local: Sao Paulo S.P.
c) Data : 25 a 31 de Janeiro de 1987
- 9.2.9. a) Titulo : CURSO CULTURA DE TECIDOS
b) Local : Sao Paulo S.P.
c) Data : 25 a 31 de Janeiro de 1987
d) Duracao : 5 hs
- 9.2.10. a) Titulo : EFICIENCIA BIOLOGICA PARA A PRODUCAO VEGETAL
b) Local : Piracicaba S.P.
c) Data : 26 a 28 de Agosto de 1987
- 9.2.11. a) Titulo : II SIMPOSIO BRASILEIRO DE CULTURA DE
TECIDOS VEGETAIS
b) Local: Brasilia D.F.
d) Data: 5 a 8 de Outubro de 1987
- 

9.3. Apresentacao de trabalhos em congressos

9.3.1 a) Titulo : DETERMINACAO DA TAXA DE MULTIPLICACAO " IN VITRO " DO ABACAXI (Ananas comosus) CULTIVAR SMOOTH CAYENNE EM DIFERENTES CONCENTRACOES DE ANA E BAP.

b) Autores : COSTA,R.M.B.F.L.da ; GUERRA , M.P.

c) Entidade : 6 Congresso Brasileiro de Iniciacao Cientifica em Ciencias Agrarias

d) Data : 01 a 5 de Setembro de 1986

e) Local : Lages S.C.

9.3.2.a)Titulo:PROPAGACAO VEGETATIVA DO FIGO(Ficus carica) CULTIVAR ROXO DE VALINHOS PELA CULTURA DE MERISTEMAS

b) Autores : COSTA, R.M.B.F.L.da; GUERRA ,M.P.

c) Entidade : 6 Congresso Brasileiro de Iniciacao Cientifica em Ciencias Agrarias

d) Data : 01 a 5 de Setembro de 1986

e) Local : Lages S.C.

9.3.3.a) Titulo:MICROPROPAGACAO DO PALMITEIRO(Euterpe ecullis)

b) Autores : GUERRA,M.P.;COSTA,R.M.B.F.L.da;SILVA,A.P.da

c) Entidade : I Encontro Brasileiro de Pesquisadores em Palmito

d) Data : 26 a 28 de Maio de 1987

e) Local : Curitiba PR.