



**Politécnico
Castelo Branco**

Escola Superior Agrária



Micropropagação do Castanheiro

Espécie europeia: *Castanea sativa* (sensível à doença da tinta)

Material vegetal com resistência à doença...

Castanea crenata (castanheiro japonês)



Híbridos *C. sativa* x *C. crenata*

M1, M2, M3, N1, N2, N3, N4, N5, (obtidos na década de 60/70 no CEC, Alcobaça)

CA90, Colutad (obtidos na UTAD)

Clones obtidos pela Faculdade de Ciências de Lisboa/INIAV

Marsol, Marigoule (híbridos franceses, produtores diretos)

Semente:

Variabilidade, pelo que a planta que daí se desenvolve não mantém as características da planta mãe

Propagação vegetativa

- ✓ ***Manutenção das características da planta mãe***
 - ✓ ***Propagação de plantas que não produzem semente viável***
 - ✓ ***Redução do período de juvenilidade***
 - ✓ ***Económicas***
 - ✓ ***...***
- Tipos de propagação vegetativa:
 - a) Enxertia
 - b) Estacaria
 - c) Amontoa



MICROPROPAGAÇÃO

Propagação *in vitro*

condições assépticas

Explante

**meristema
gomo...**

**controlo de fatores
nutritivos
hormonais
químicos
físicos**



“A propagação de plantas em meio de cultura de formulação definida, mantidas em ambiente artificial controlado, utilizando contentores de vidro ou plástico, com manipulação em condições assépticas”



Possibilidade de reduzir uma planta aos seus órgãos, tecidos ou células e sua utilização como unidades biológicas isoladas



Capacidade de totipotência das células vegetais



Condições físicas para desenvolvimento de estruturas vegetativas



Formulação de meios nutritivos que permitam suprir as necessidades metabólicas

Micropropagação - Fases

FASE 0

Seleção da planta mãe e preparação do explante

FASE 1

Estabelecimento de uma cultura asséptica

FASE 2

Multiplicação

FASE 3

Enraizamento / preparação para crescimento em ambiente natural

FASE 4

Aclimatização

Fase 0 - Seleção da planta mãe e preparação do explante

- constituição genética, idade, sanidade e condições fisiológicas;
- desinfeção

Ex. de metodologia

Gomo axilar:

Processo de desenvolvimento de meristemas pré-existent

maior garantia de estabilidade genética







Esterilização de material



Câmaras de fluxo laminar

Ambiente asséptico



Incorpora elementos minerais de que a planta precisa, como cálcio, potássio e outros, além de água e reguladores de crescimento (nomeadamente auxinas e citocininas)

Meios de cultura

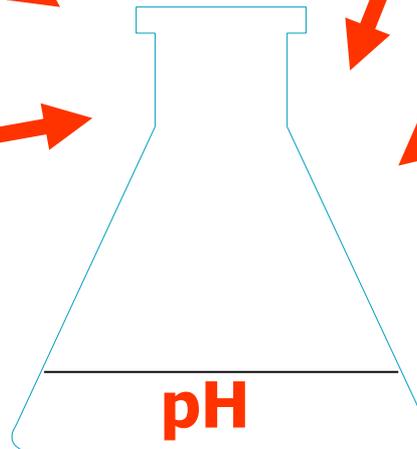
Macronutrientes

Reguladores de crescimento

Micronutrientes

Vitaminas

Fonte de carbono



Líquidos
Semi-sólidos

Meios de cultura



Meios de cultura



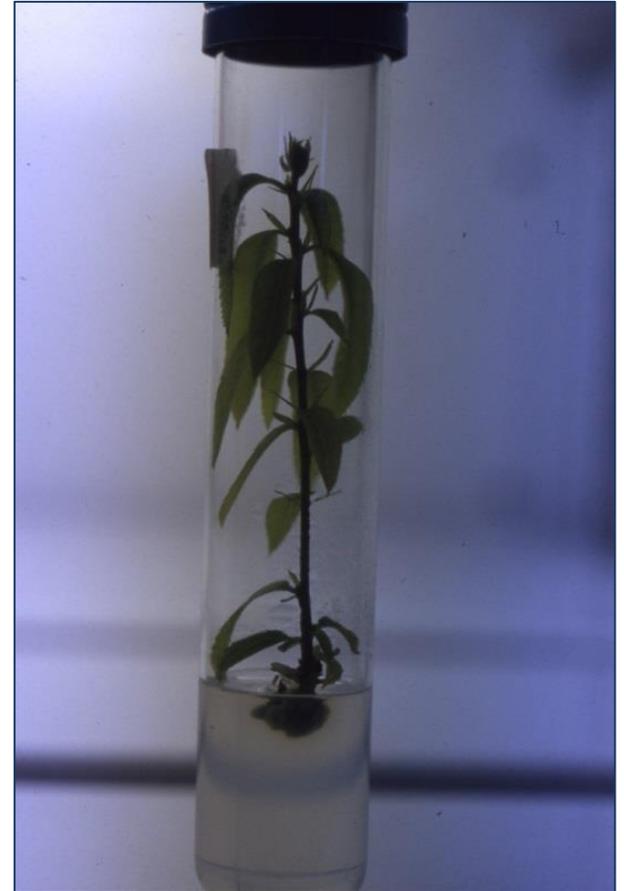
Fase 1 - Estabelecimento em cultura asséptica

Desinfecção de material vegetal



Desinfecção. Meios nutritivos selecionados. Condições de cultura adequadas à espécie (composição do meio, luz, fotoperíodo e temperatura)

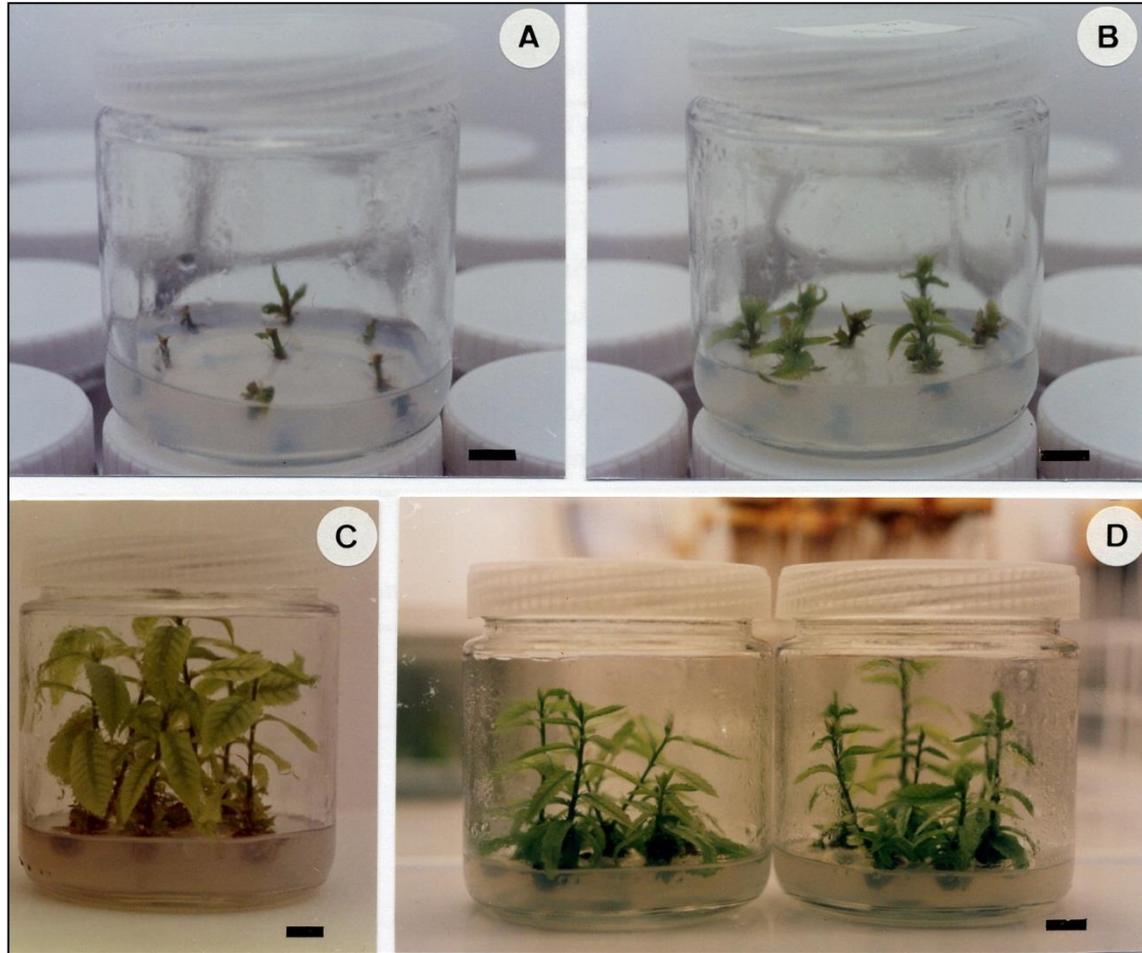
Início e final da fase de estabelecimento

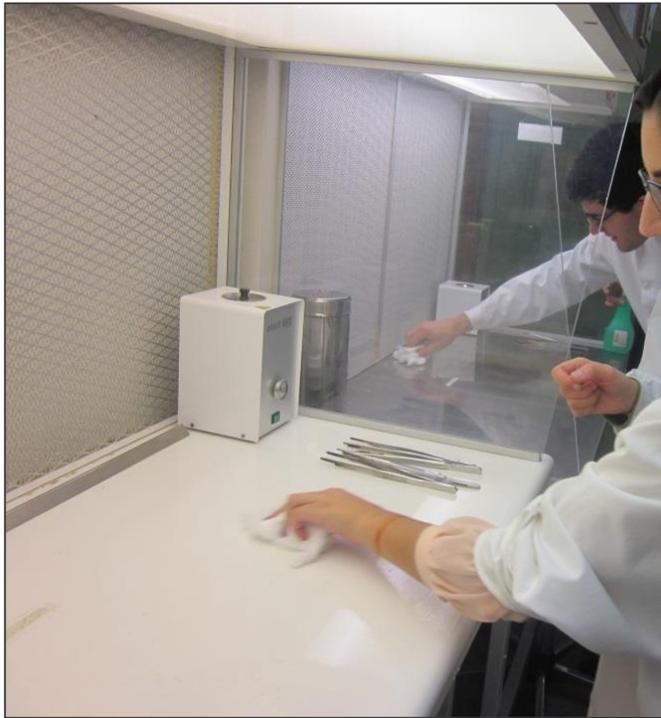


Fase 2 - Multiplicação



Aumento do nº de plantas
sem perda da estabilidade
genética

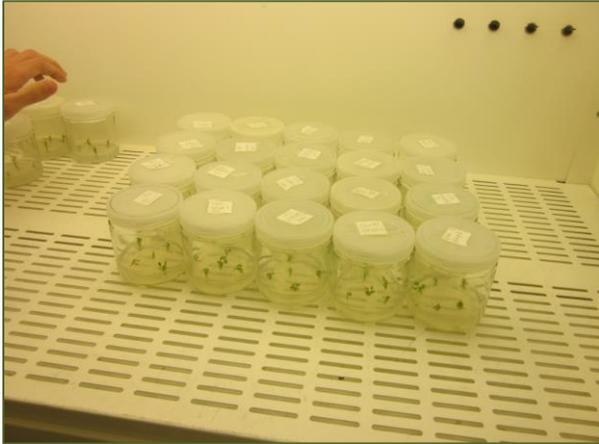






Salas de cultura.
Luz (intensidade), fotoperíodo
e temperatura.

Meio agarizado



Bioreatores de imersão temporária



Vantagens

Redução na mão-de-obra

Redução do nº de frascos

Aumento do volume dos frascos

Redução da frequência de repicagens

Menor tempo na troca de meio cultura

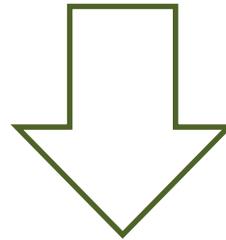
Menor tempo de etiquetagem,...

No material vegetal

Taxas mais elevadas (entre 10 a 20x)

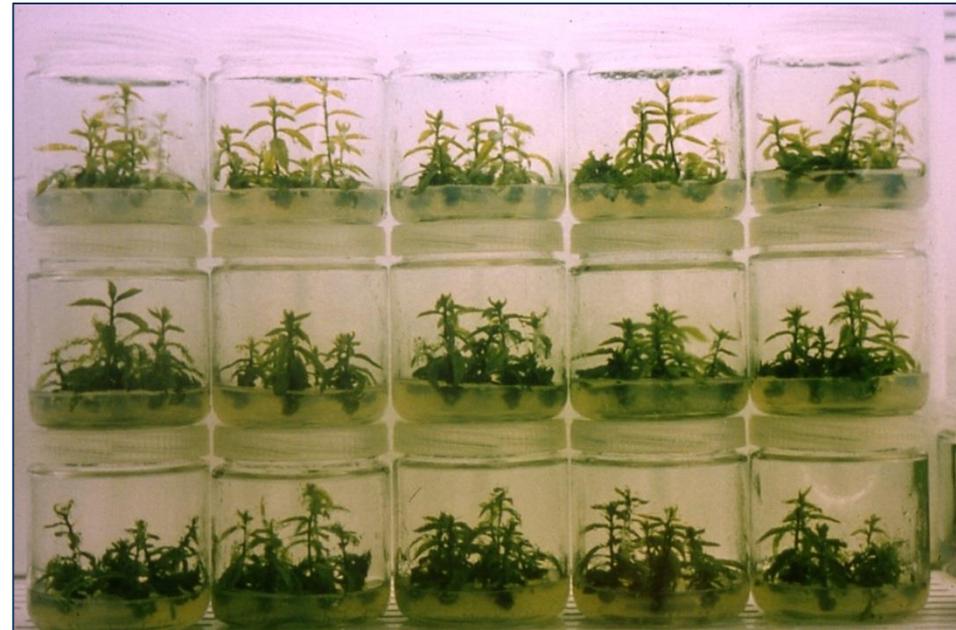
Material mais vigoroso

Algum risco de contaminação



Maior rentabilidade

Rebento caulinar
(sem raiz, apenas com parte aérea)



Estabelecimento

Multiplicação

Enraizamento

Fase 3 - Enraizamento



Indução radicular



In vitro



Ex vitro

Expressão e desenvolvimento radicular

Indução radicular





A



B

Fase 4 - Aclimatização

Plantas desenvolvidas em heterotrofia: adaptação a sobreviver em condições autotróficas



- **Humidade** (diminuição gradual de 90/95% para 50% HR)
- **Luz** (aumento gradual até 250/500/1000 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$)

gradualmente alterados permite progressiva autosuficiência fotossintética



Em estufas ou túneis de aclimatização com ambiente controlado





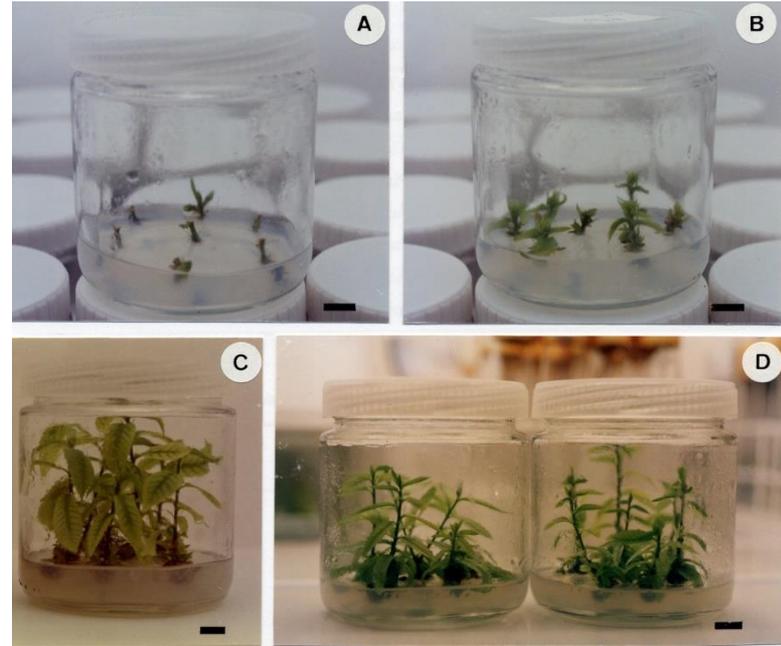


Micropropagação – Resumo

Estabelecimento



Multiplificação



Enraizamento



Micropropagação – Resumo

...Enraizamento Aclimatização



Algumas vantagens...

- Produção ao longo de todo o ano em condições controladas
- Não estão dependentes das condições edafo-climáticas
- Obtenção de elevado nº de plantas/m² com economia de espaço
- Condições assépticas em que as plantas se desenvolvem (“isentas” de pragas e doenças) – fitossanidade elevada
- Propagação massal de plantas geneticamente idênticas (clonagem)
- Rápida multiplicação de plantas para lançamento no mercado
- Ferramenta importante para a conservação e melhoramento genético de plantas

Algumas desvantagens...

- Ocorrência de possíveis contaminações
- Dificuldade em encontrar formulação nutritiva adequada para a espécie e dificuldades para algumas espécies
- Exige formação de pessoal especializado
- Laboratório especializado com custos elevados
- Redução da base genética (clonagem)
- Significativo investimento

MICROPROPAGAÇÃO

Propagação de plantas, não pelos métodos tradicionais de enxertia, estacaria, amontoa...

- estabilidade genética
- taxas de multiplicação elevadas
- qualidade fitossanitária

Características
genéticas e
morfológicas
com
valor acrescentado



Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior Agrária
Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior



Maria Teresa Coelho
mteresacoelho@ipcb.pt

