



**INSTITUTO FEDERAL**  
**SANTA CATARINA**

# CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

## Introdução a técnicas de cultivo

**105**  
ANOS

REDE FEDERAL  
DE EDUCAÇÃO  
PROFISSIONAL  
E TECNOLÓGICA  
1909-2014

**Prof. Fernando Domingo Zinger**

**Estudos básicos de  
biologia celular**

***Cultura de Tecidos***

**Conservação  
de germoplasma**

**Micropropagação**  
• propagação clonal (clonagem)

**Estudos  
aplicados**

**Melhoramento genético**

**fixação de genótipos superiores**  
- Resistência (doenças, salinidade, herbicidas, etc)  
- Eliminação de vírus  
- Variabilidade genética  
• plantas transgênicas

**Metabólitos secundários**

• biossíntese  
• produção de metabólitos

# A cultura in vitro e suas aplicações no Melhoramento de Plantas

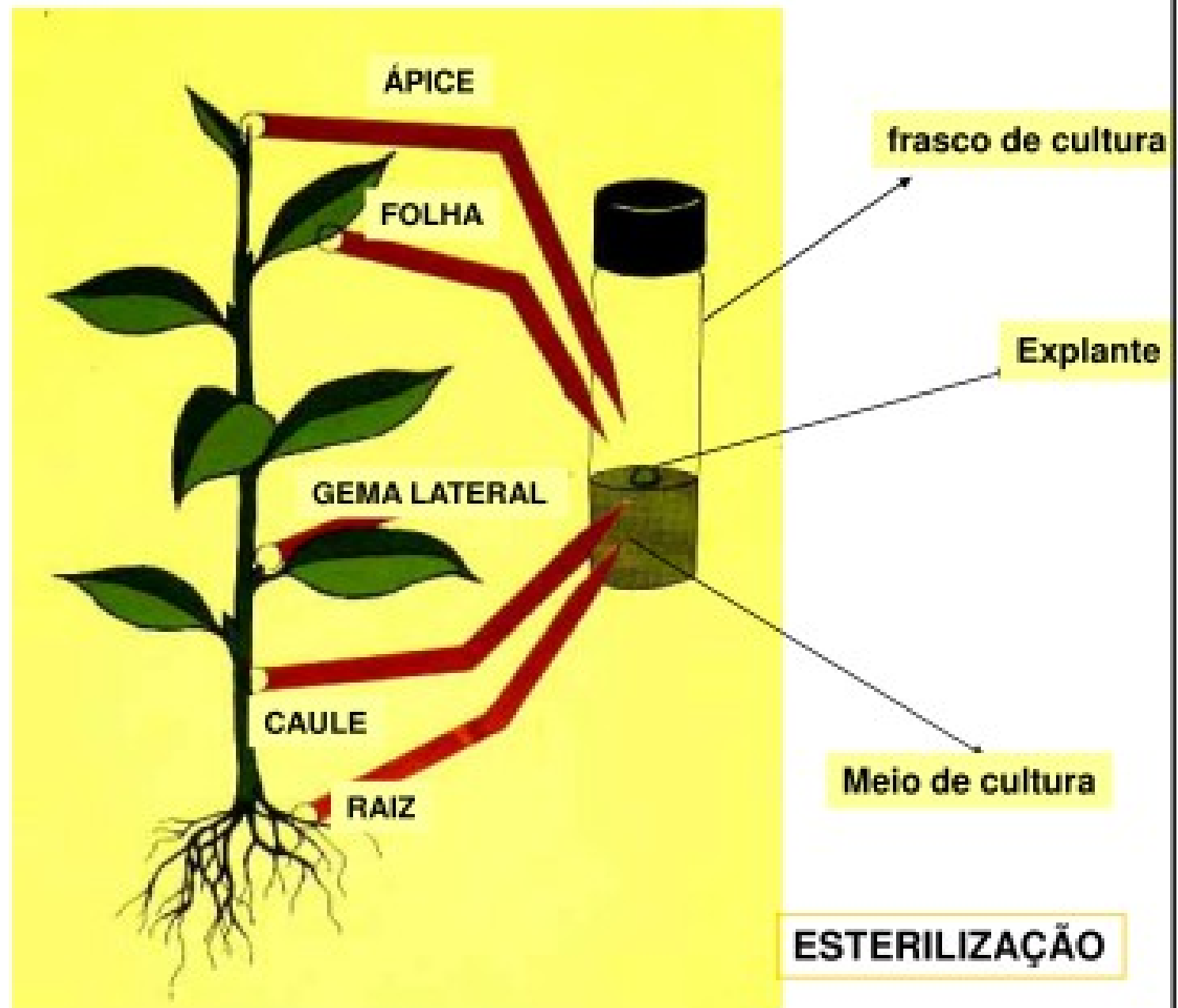
- **-Micropropagação: Multiplicação comercial, limpeza sanitária, seleção**
- Haploidização in vitro: Produção de haploides**
- Cultura de embriões: Hibridação inter-específica, partenogénese**
- Cultura de protoplastos: Produção de híbridos somáticos e sementes artificiais**
- Conservação de germoplasma: Uma questão de espaço**
- Variação somaclonal: Outra ferramenta em mutagénese**

# O que é necessário para realizar a cultura?

## 1- EXPLANTE

- **órgão, tecido ou célula – início à cultura**
  
- **diferentes tipos**
  - **pedaços de órgãos – caule, raiz, folha**
  - **células específicas- grão de pólen, endosperma, calos**

# FONTES DE EXPLANTE



# O que é necessário para realizar a cultura?

## 1- EXPLANTE

- Escolha dependente do objetivo da cultura
- Condições fisiológicas, idade, saudável
- Cada espécie possui necessidades específicas para o cultivo *in vitro*



# O que é necessário para realizar a cultura?

## 1- EXPLANTE

- Escolha dependente do objetivo da cultura
- Condições fisiológicas, idade, saudável
- Cada espécie possui necessidades específicas para o cultivo *in vitro*



# O que é necessário para realizar a cultura?

## 2- MEIO DE CULTURA

- **Minerais** (17 elementos essenciais)
- **Fonte de Carbono e energia** (sacarose)
- **Reguladores de crescimento/ fitormônios** (auxinas/ citocininas)
- **Vitaminas** (tiamina, piridoxina, ácido nicotínico, biotina, ácido ascórbico, inositol)
- **Compostos orgânicos**
- **Água**
- **Agente geleificante (agar)**
- **pH= 5,0 a 5,7**

## O que é necessário para realizar a cultura?

### ASSEPSIA

- Explante
- Meio de Cultura
- Manipulação
  - instrumentos
  - fluxo laminar



# Estágios *in vitro*

- **Indução:**
  - células do explante desdiferenciam
  - Início de divisões celulares
- **Proliferação**
  - intensa divisão celular
- **Diferenciação**
  - Organogênese – órgãos ( brotos, raízes, flores)
  - Embriogênese - embriões
  - Calogênese - calo

# Vias de diferenciação do material em cultura

➤ POUCO DIFERENCIADO (calo)

➤ MORFOGÊNESE DIRETA

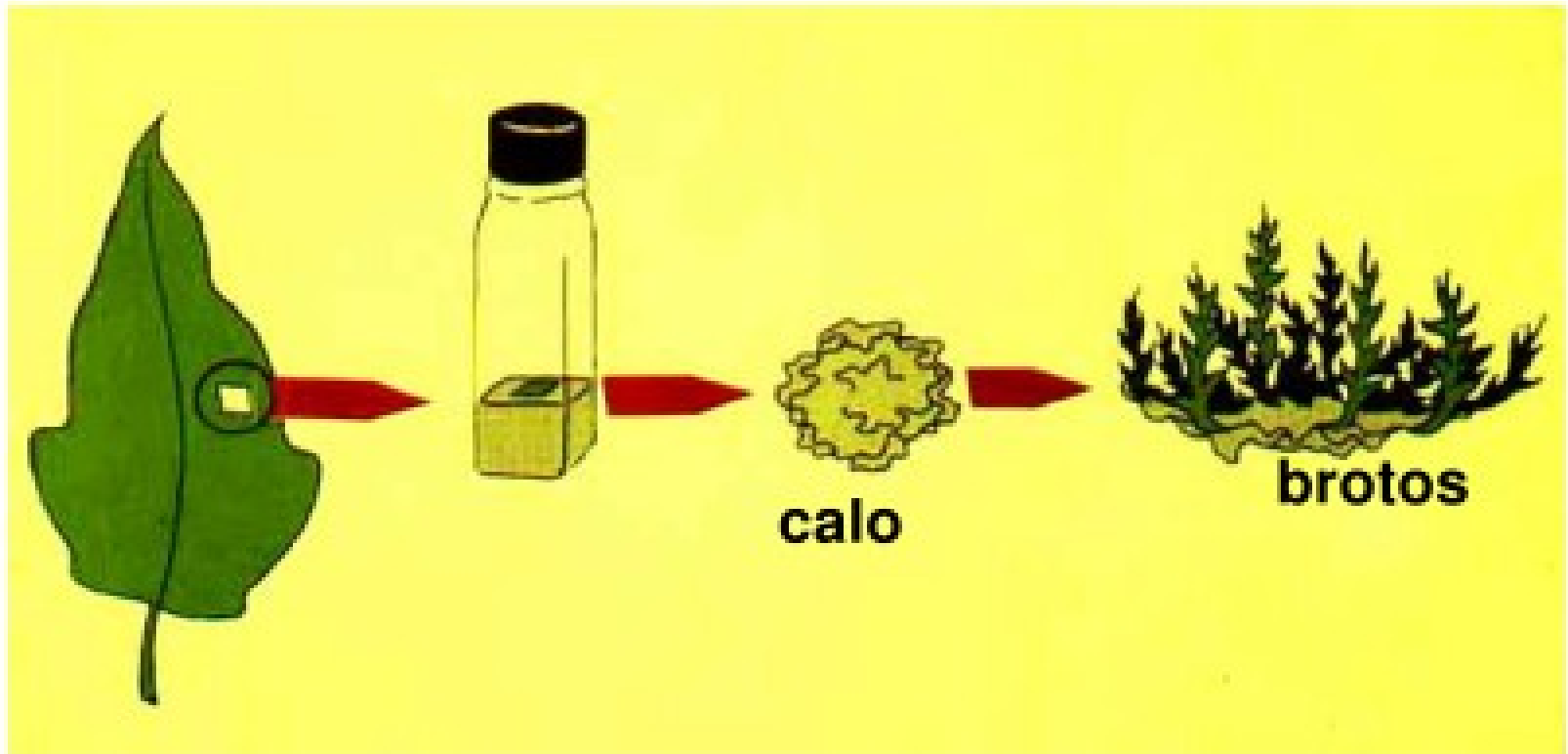
**ORGANOGENESE**  
(brotos, flores, raízes)

**EMBRIOGENESE**  
(embriões somáticos)

**MORFOGENESE INDIRETA**

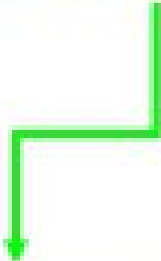
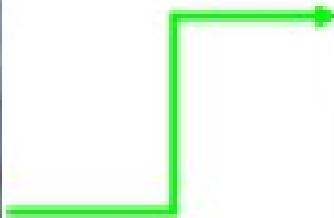
```
graph TD; A[POUCO DIFERENCIADO (calo)] --> B[MORFOGENESE DIRETA]; B --> C[ORGANOGENESE (brotos, flores, raízes)]; B --> D[EMBRIOGENESE (embriões somáticos)]; C --> E[MORFOGENESE INDIRETA]; D --> E;
```

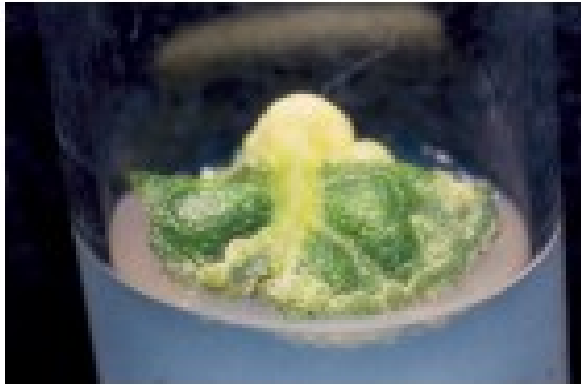
## Morfogênese indireta



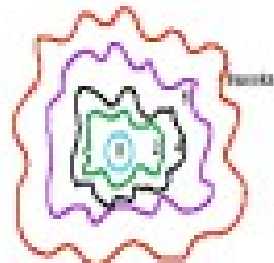
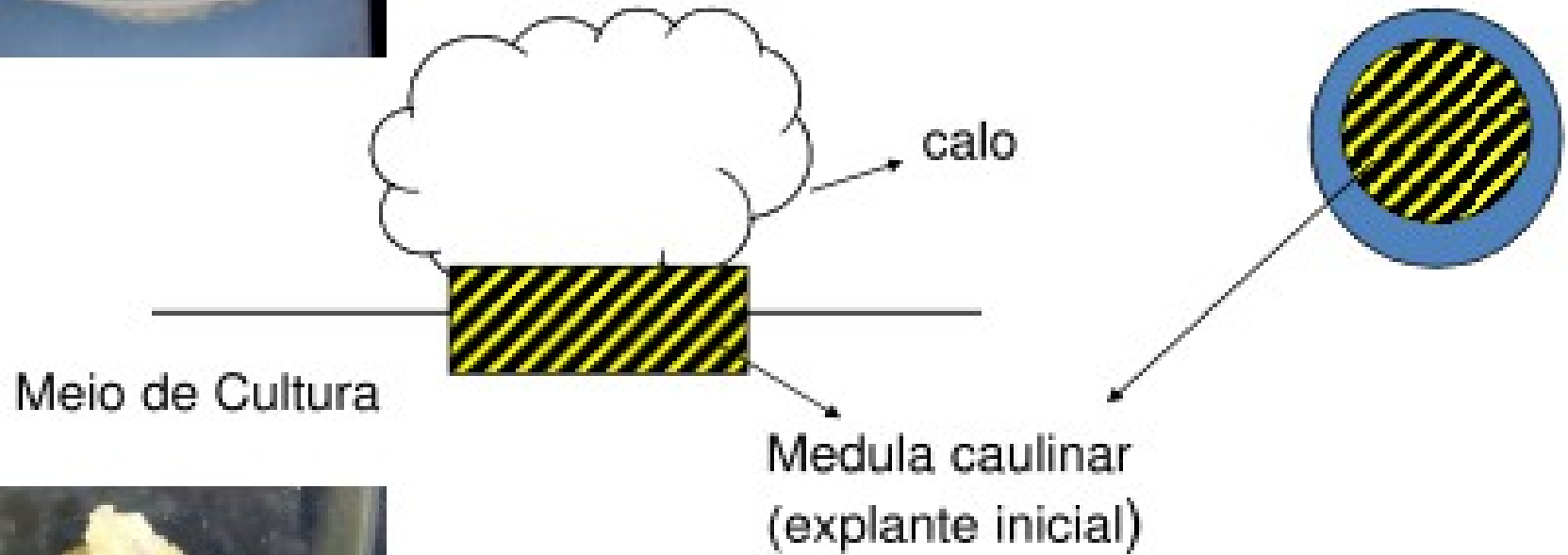
# Vias de diferenciação do material em cultura

**POUCO ORGANIZADO (calo)**





# CALO





# Vias de diferenciação do material em cultura

**ORGANOGÊNESE**

**DIRETA**



**INDIRETA**



# Vias de diferenciação do material em cultura

EMBRIOGÊNESE  
SOMÁTICA

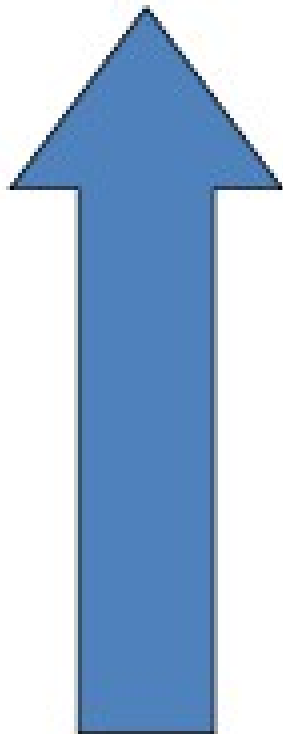
DIRETA



INDIRETA



**Auxina**



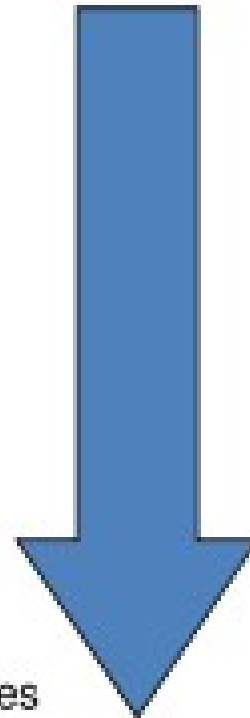
**alto**

**baixo**

auxinas+citocininas

- enraizamento
- calos monocotiledoneas
- embriogenese (início)
- raízes de calos
- calos dicotiledoneas
- gemas adventícias
- proliferação de gemas axilares

**Citocinina**

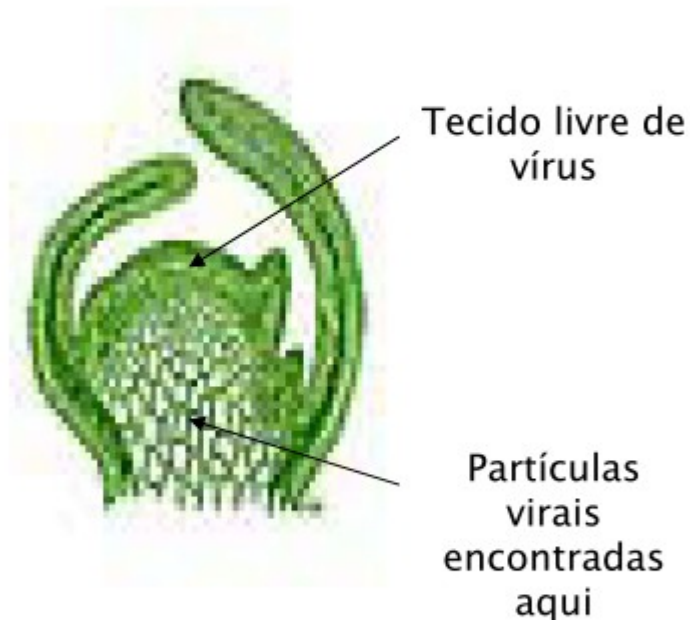


**baixo**

**alto**

## Limpeza sanitária

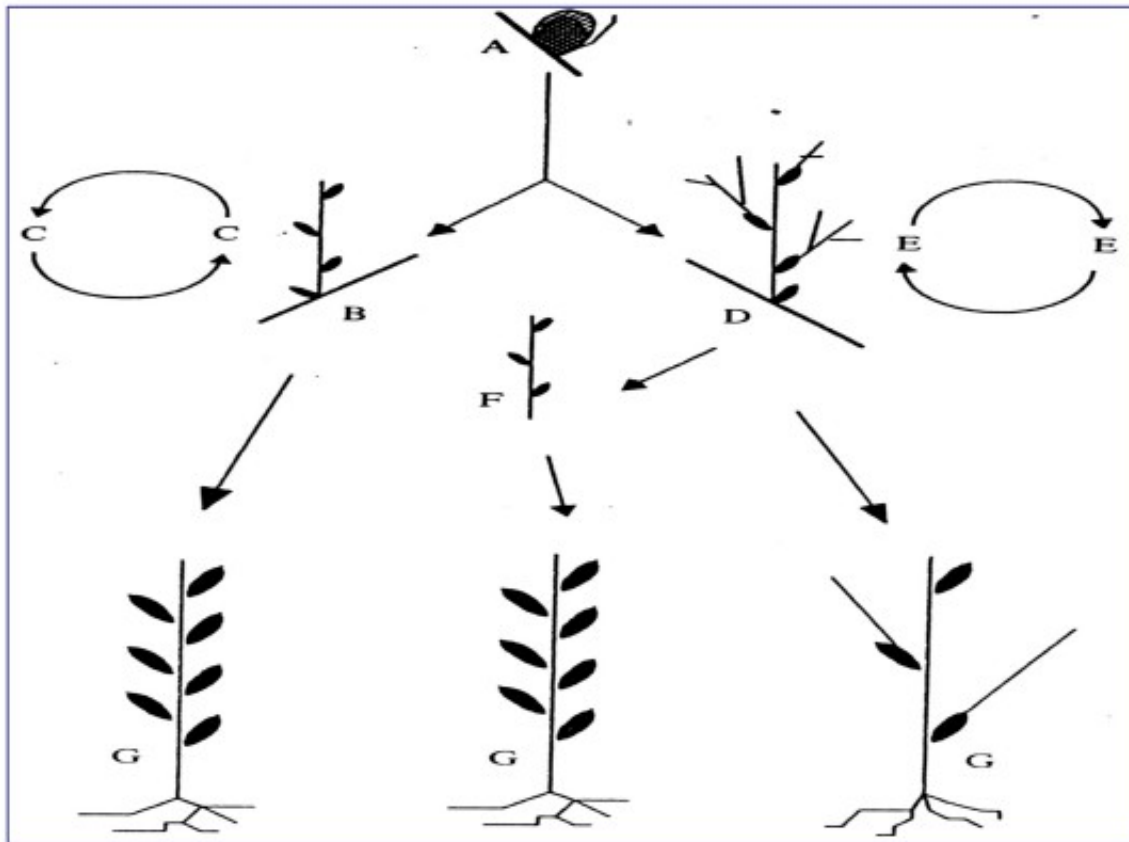
### Porque estão os ápices meristemáticos livres de vírus?



- Os vírus difundem-se na planta através do sistema vascular, que não se encontra desenvolvido nos ápices meristemáticos
- Os processos de mitoses e duplicação de cromossomas competem com a replicação dos vírus
- Os conteúdos elevados de auxinas inibem a difusão dos vírus
- Os sistemas naturais de inativação de vírus tem a sua máxima expressão nas zonas meristemáticas

**Note Bem:** A cultura de meristemas só por si não garante 100% de eliminação de vírus, toda a descendência tem que ser testada O material vegetal sanitariamente limpo, pode ser rapidamente reinfestado. A única solução de longa duração é a obtenção de resistência genética

## Micropropagação conforme por evolução de gomos axilares.



A- O explante pode conter um meristema isolado, um gomo terminal ou axilar, uma extremidade de um ramo, um fragmento de ramo que possua pelo menos 1 gomo axilar

B- Num meio pobre em citocininas o meristema apical desenvolve-se sob a forma de um eixo caulinar, sem ramificações

C- Este eixo pode ser cortado em fragmentos que permanecem sobre o mesmo meio dando novos ramos folhosos

D- Se o explant inicial é depositado num meio rico em citocininas, ou se a dominância apical não é intensa, os axilares gomos desenvolvem-se, dando um eixo com ramificações secundárias, terciárias e assim sucessivamente.

E- Os tufos de rebentos são então fragmentados e individualizados.

F- Os rebentos são transferidos se necessário para meio de alongamento afim de os preparar para a fase de enraizamento

G- Os ramos podem ser agora transferidos para um meio neutro (S/hormonas) ou com auxinas para enraizarem.