



Acompanhamento de tarefas de micropropagação no Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior

José Paulo Martins Mateus

Orientadora:

Prof^a. Doutora Maria Teresa Coelho, Instituto Politécnico de Castelo Branco

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciado em Agronomia, realizado sob a orientação científica da Professora Doutora Maria Teresa Coelho, Professor Adjunto do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

Julho 2022

Agradecimentos

Em especial, à Professora Doutora Maria Teresa Coelho, por ter aceite orientar o meu trabalho de estágio e também por todo o apoio prestado quer neste período de estágio, quer ao longo de toda a licenciatura.

À equipa do Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior pela disponibilidade, apoio e conhecimentos transmitidos: Diretor científico José Carlos Gonçalves, Isa Ramalho, Celina Barroca e Joana Domingues.

À minha família por todo o incentivo e apoio incondicional que me deram ao longo de todo o meu percurso académico, bem como por terem estado presentes tanto nos bons, como nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos, pela sua amizade, companheirismo e por se terem mostrado sempre disponíveis em ajudar.

A todos, que de forma direta e indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

Resumo

O acompanhamento do trabalho realizado no Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior (CBP-BI) assenta no estudo e aprofundamento do conhecimento em relação à temática da micropropagação, ou seja, na execução dos procedimentos necessários para realização da micropropagação.

O presente trabalho foi realizado no Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior (CBP-BI), uma infraestrutura do Sistema Científico e Tecnológico Nacional, situado no *Campus* da Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

Neste trabalho, primeiramente é apresentado o conceito de micropropagação, fazendo referência às suas vantagens e desvantagens e as várias metodologias de micropropagação. Encontra-se abordado o conceito de meio de cultura e os seus diferentes tipos que são utilizados na micropropagação. É feita referência aos fatores que afetam a regeneração *in vitro*, os reguladores de crescimento e a sua importância nas culturas *in vitro*, e também as principais aplicações da cultura de tecidos bem como a sua grande importância.

O objetivo deste trabalho foi acompanhar e participar nas atividades de micropropagação realizadas no CBP-BI, concentrando-se nos seguintes trabalhos: preparação de meio de cultura, repicagem de culturas das seguintes espécies: esteva (*Cistus ladanifer* L.), castanheiro (*Castanea sativa* Mill.), figueira (*Ficus carica* L.), cipreste-do-Buçaco (*Cupressus lusitânica* Mill.), gengibre (*Zingiber officinale*) e pitaia-branca (*Hylocereus undatus*). Foram acompanhadas e realizadas todas as fases de micropropagação, desde a seleção da planta-mãe até a aclimatização e colocação das plantas individualmente em vasos na estufa.

Palavras-chave

Meio de cultura, micropropagação, repicagem de culturas.

Abstract

The monitoring of the work carried out at the Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior (CBP-BI) is based on the study and deepening of knowledge in relation to the subject of micropropagation, that is, in the execution of the necessary procedures to carry out micropropagation.

The present work was carried out at Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior (CBP-BI), an infrastructure of the National Scientific and Technological System, located on the Campus of the Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

In this work, the concept of micropropagation is first presented, referring to its advantages and disadvantages and the various micropropagation methodologies. The concept of culture medium and its different types that are used in micropropagation are discussed. Reference is made to factors that affect in vitro regeneration, growth regulators and their importance in in vitro cultures, as well as the main applications of tissue culture as well as their great importance.

The objective of this work was to monitor and participate in the micropropagation activities carried out at CBP-BI, focusing on the following works: preparation of culture medium, subculture of cultures of the following species: rock rose (*Cistus ladanifer* L.), chestnut (*Castanea sativa* Mill.), fig tree (*Ficus carica* L.), bussaco cypress (*Cupressus lusitânica* Mill.), ginger (*Zingiber officinale*) and white pitaya (*Hylocereus undatus*). All stages of micropropagation were monitored and carried out, from the selection of the mother plant to acclimatization and placing the plants individually in pots in the greenhouse.

Keywords

Culture medium, micropropagation, subcultures.

Índice Geral

1	INTRODUÇÃO	1
2	MICROPROPAGAÇÃO	2
2.1	FASES DA MICROPROPAGAÇÃO	2
2.2	VANTAGENS E DESVANTAGENS	6
2.3	PRINCIPAIS SISTEMAS DE MICROPROPAGAÇÃO	7
2.4	MEIOS DE CULTURA	8
2.5	REGULADORES DE CRESCIMENTO E A SUA IMPORTÂNCIA NA MICROPROPAGAÇÃO	10
2.6	FATORES QUE AFETAM A REGENERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	11
3	ATIVIDADES DE MICROPROPAGAÇÃO REALIZADAS NO CBP-BI	12
3.1	PREPARAÇÃO DO MEIO DE CULTURA	12
3.2	FASE 0: SELEÇÃO DA PLANTA-MÃE E PREPARAÇÃO DO EXPLANTE	14
3.3	FASE 1: ESTABELECIMENTO EM CULTURA ASSÉTICA	14
3.4	FASE 2: MULTIPLICAÇÃO E REPICAGEM DE CULTURAS	15
3.5	FASE 3: ENRAIZAMENTO	17
3.6	FASE 4: ACLIMATIZAÇÃO	17
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
6	ANEXOS	22

Índice de figuras

Figura 1- Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior (A); Logotipo CBP-BI (B)	1
Figura 2- Propagação <i>in vitro</i> (A); Sala de cultura/Câmara de crescimento (B)	2
Figura 3- Composição de um meio de cultura.....	8
Figura 4- Meios de cultura com carvão ativado.....	9
Figura 5- Recipientes de plástico com filtro de ar.....	9
Figura 6- Biorreatores.....	10
Figura 7- Placa de aquecimento com agitador (A) e Distribuidor (B).....	13
Figura 8- Autoclave.....	13
Figura 9- Frascos com meio de cultura.....	14
Figura 10- Repicagem de culturas.....	15
Figura 11- Câmara de Fluxo Lâminar Horizontal.....	16
Figura 12- Material utilizado para repicagem de culturas.....	16
Figura 13- Repicagem de plantas de gengibre (A); Repicagem de plantas de Pitaia-branca (B).....	16
Figura 14- Repicagem de plantas de esteva.....	16
Figura 15- Fitorregulador (hormona de enraizamento): Clonex (A); Jiffis (B); Parte basal da planta em contacto com o Clonex; Planta introduzida no substrato Jiffi (D) .	17
Figura 16- Câmara de aclimatização/ Fitoclíma (A); Caixa com tampa totalmente fechada (B); Caixa com tampa semiaberta (C); Caixa totalmente aberta (D).....	18
Figura 17- Plantas de castanheiro (A), esteva (B), figueira (C) na estufa, resultantes de micropropagação.....	18
Figura 18- Estufa (A); Plantas de gengibre e pitaia-branca, na estufa resultantes de micropropagação (B)	18

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

CBP-BI- Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior

NaClO- Hipoclorito de sódio

Hg Cl₂- Cloreto de mercúrio

IBA- ácido indol-3-butírico

AIA- ácido indol-3-acético

ANA- ácido α -naftalenoacético

AG3- ácido giberélico

pH- potencial hidrogeniónico

FeNaEDTA- solução de ferro

NaOH- hidróxido de sódio

HCl- ácido clorídrico

MS- meio de cultura de Murashige e Skoog

HEPA- high efficiency particulate air

CFL- câmara de fluxo lâminar

UV- radiação ultra violeta