



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**INFLUÊNCIA DE ALGUNS FACTORES EM EMBRIOGÉNESE  
SOMÁTICA DE SOBREIRO ( *Quercus suber L.* )**

( INSTITUTO MADRILEÑO DE INVESTIGACIÓN AGRARIA Y ALIMENTARIA )

**Engenharia Florestal**  
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

**VOLUME I**

**Brigite Roxo Botequim**



**CASTELO BRANCO**

**2001**

# Índice

<i>Agradecimentos</i>	v
<i>Resumo e palavras chave</i>	vii
<i>Abstract and key-words</i>	viii
<i>Índice</i>	ix
<i>Abreviaturas</i>	xi
<i>Nota prévia</i>	xii

## **I. INTRODUÇÃO**

---

<b>1. A embriogénese somática na cultura <i>in vitro</i></b>	2
1.1. <i>Aspectos gerais</i>	2
1.1.1. Tipos de embriogénese	5
1.1.2. Caracterização das fases da embriogénese	6
1.2. <i>Apoio ao melhoramento genético</i>	15
1.3. <i>Varição somaclonal</i>	16
1.3.1. O uso de marcadores de DNA na determinação de variação somaclonal	16
<b>2. O Sobreiro</b>	19
2.1. <i>Descrição geral</i>	19
2.2. <i>Importância económica e social</i>	22
2.3. <i>Melhoramento genético</i>	25
2.4. <i>Sistemas de multiplicação</i>	28
2.4.1. Técnicas convencionais	28
2.4.2. <i>Sistemas <i>in vitro</i></i>	30
<b>3. O IMIA e a sua experiência na cultura <i>in vitro</i></b>	32
3.1. <i>O projecto actual sobre embriogénese somática em <i>Quercus</i></i>	32
3.1.1. Participação em tarefas próprias do grupo de investigação	33
3.1.2. Regeneração de plantas de Sobreiro mediante embriogénese somática	34
<b>4. Objectivos dos ensaios experimentais</b>	38

## ***II. MATERIAL E MÉTODOS***

---

- |  |    |
|--|----|
| <b>1. Material e métodos de cultura</b>            | 40 |
| 1.1. <i>Indução de embriogênese somática</i>       | 40 |
| 1.2. <i>Embriogênese Recorrente</i>                | 42 |
| <b>2. Expressão e interpretação dos resultados</b> | 43 |

## ***III. RESULTADOS E DISCUSSÃO***

---

- |   |    |
|---|----|
| <b>1. Importância da fase I no protocolo de indução de embriogênese Somática em <i>Q. suber</i></b> | 49 |
| <b>2. Influência da temperatura na embriogênese recorrente de <i>Q. suber</i></b>                   | 55 |

## ***IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS***

---

## ***V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

## ***VI. ANEXOS (Volume II)***

---

## Resumo

O presente trabalho envolveu a aplicação de técnicas de regeneração de plantas *in vitro* mediante embriogénese somática, tendo sido analisado a influência de diversos factores na aplicação desta via de regeneração à espécie *Quercus suber* (sobreiro).

Um dos objectivos consistiu na avaliação da importância da fase I do protocolo de indução previamente estabelecido para induzir embriogénese somática em folhas adultas de sobreiro. Neste estudo, mostrou ser mais eficaz para a manifestação de embriogénese somática em folhas provenientes de cinco árvores “Plus” (A-2, A-3, A-4, A-6 e A-80) a sequência das fases do protocolo (ensaio controlo), parecendo aconselhável a existência da primeira fase de introdução *in vitro* em meio nutritivo “pobre”, dado que a sua ausência no ensaio teste não permitiu que se obtivesse embriogénese somática.

Estudou-se também a influência de três períodos de frio (8, 12 e 16 semanas a  $4 \pm 1$  °C no escuro) sobre o crescimento proliferativo de massas embrionárias provenientes de três linhas embriogénicas (A-4, A-6 e A-80), mantidas em proliferação pelo processo de embriogénese recorrente, analisando-se o efeito do genótipo nas respostas. O desenvolvimento das massas mostrou-se mais dependente do factor genótipo, dado que a maioria dos parâmetros estudados não foi afectada pelos distintos tratamentos de frio.

Durante a conservação em frio, manteve-se um crescimento activo das massas demonstrando a sensibilidade de cada genótipo aos períodos de frio. As massas sujeitas às oito semanas de frio recuperara de forma gradual o crescimento proliferativo quando expostas a condições de proliferação, contudo este período de armazenamento em frio apenas se revelou eficaz para a conservação do material vegetal, não produzindo, aparentemente, nenhum fenómeno de stress que permitisse às massas embrionárias maximizar as taxas de proliferação.

Palavras-chave: Embriogénese somática; *Quercus suber*; protocolo de indução; embriogénese recorrente; conservação em frio.