





Métodos de Propagação em Ornamentais

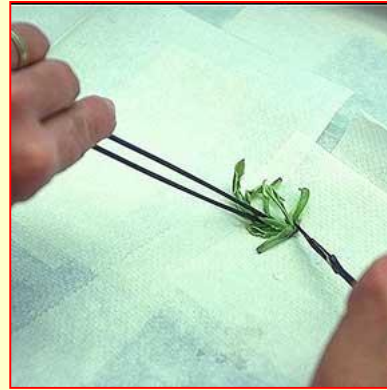
Cultura de Tecidos Vegetais

**Floricultura e Plantas
Ornamentais***

Prof. Dr. Paulo Hercílio Viegas Rodrigues
phrviegas@usp.br

Cultivo *in vitro*

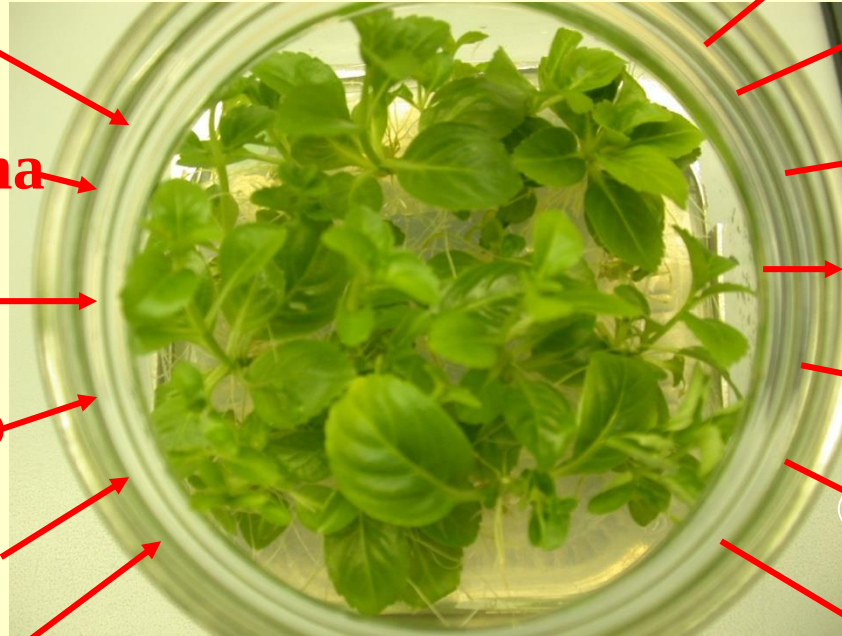
- **Produção em grande escala, pequeno espaço, durante o ano todo**
- **Propagação de espécies de difícil propagação por sementes**
- **Produção clonal de plantas, alta qualidade fitossanitária**
- **Conservação de germoplasma**
- **Recuperação de plantas livres de doenças através de cultura de meristema**
- **Manipulação genética**



Quais são as possibilidades?

Planta

- Estaca
- Meristema
- Tecido
- Embrião
- Célula
- Gene



Plantas Idênticas

Plantas livres
de doenças

Plantas Mutantes

Plantas Haploides

Plantas Híbridas

Plantas
Transgênicas

Partes de Plantas

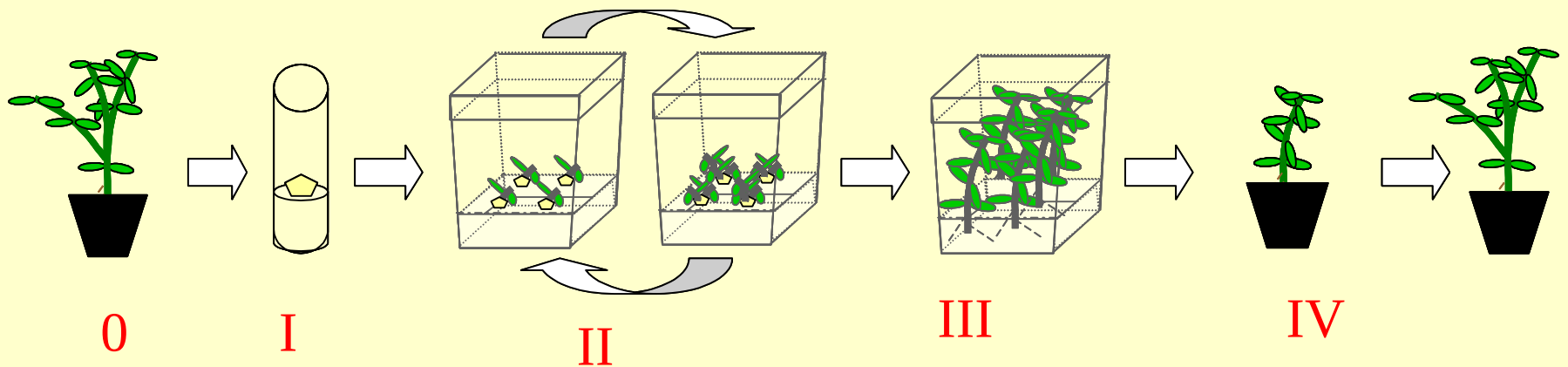
Etapas de desenvolvimento no processo de propagação *in vitro*

- T0** Preparo da planta matriz para coleta dos explantes.
- T 1** Seleção, coleta e desinfestação dos explantes e introdução *in vitro* em condições assépticas.
- T 2** Propagação dos explantes através de subculturas sucessivas, em meio de cultura apropriado.
- T 3** Alongamento e enraizamento dos propágulos produzidos.
- T 4** Transplante das plântulas obtidas para substrato e aclimatização em casa de vegetação.

Assepsia x Banco de Gemoplasma (T0)



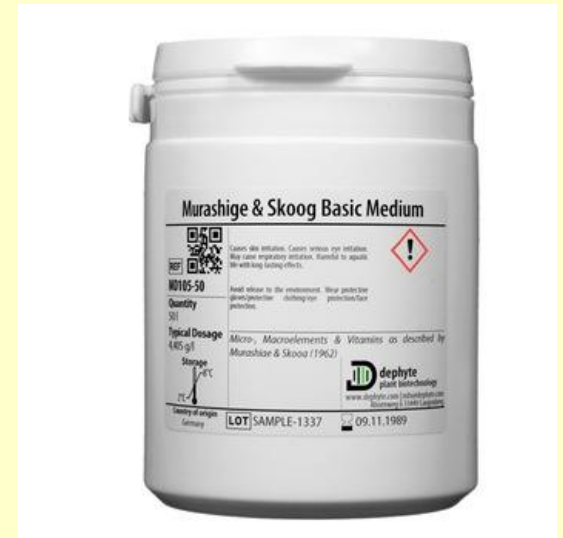
Estágios da propagação *in vitro*



Adaptado de Couceiro (2006)

Meios de Cultivo...

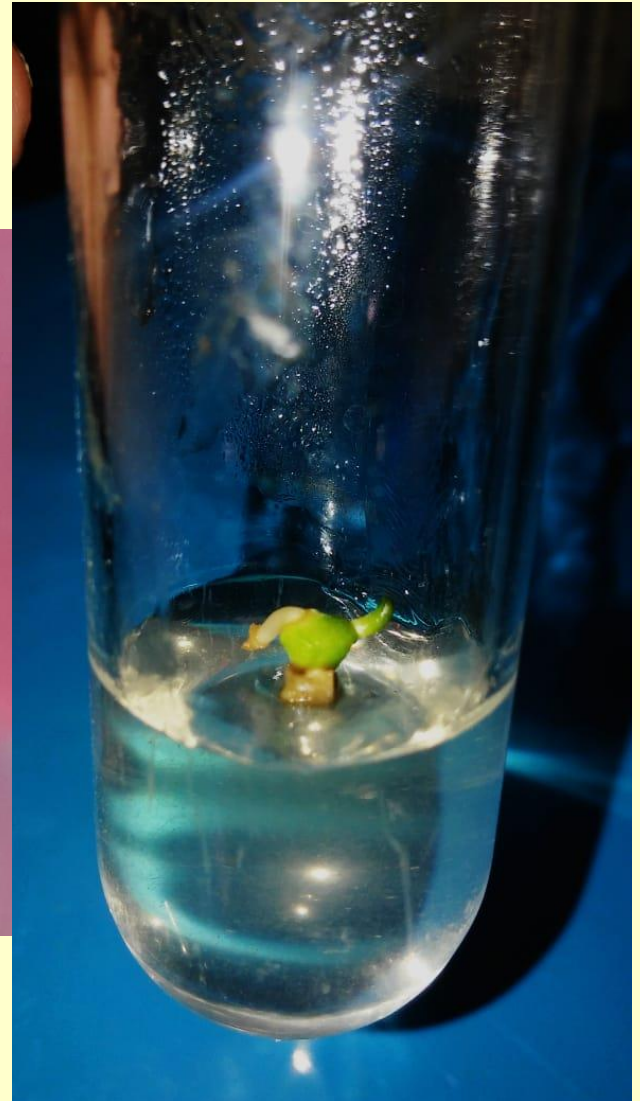
- MS (Murashige & Skooge, 1972)



- WPM (Wood Plant Media)

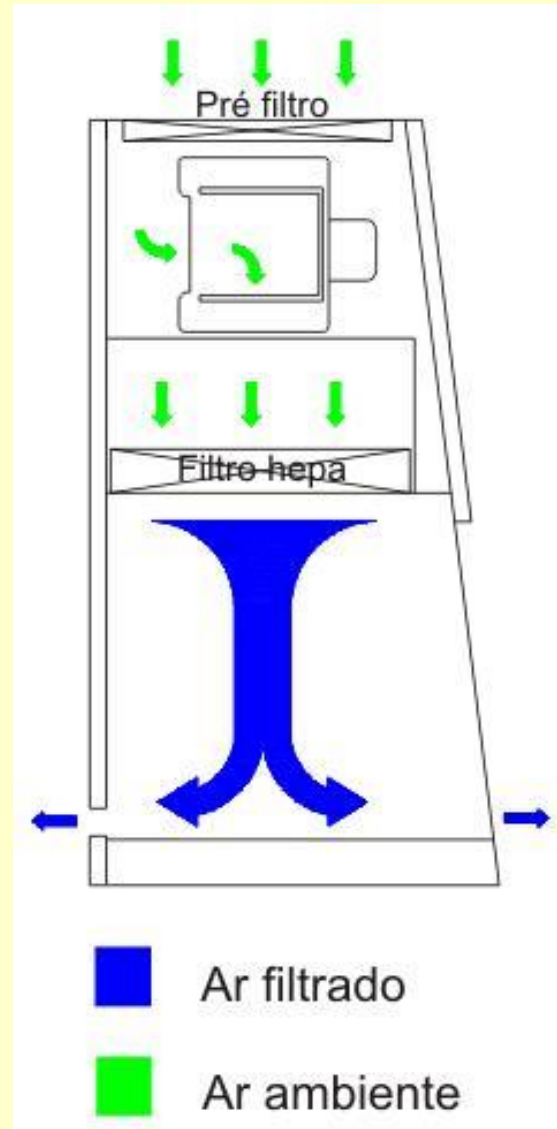


Equipamentos para o cultivo in vitro



Fluxo Laminar

- Funcionamento:



Fluxo Laminar

-Horizontal



Fluxo Laminar

-Vertical



Fluxo Laminar

Requisitos para trabalhar no fluxo laminar:

- Higiene (pessoal e do equipamento);
- Habilidade;
- Concentração.

→ **Repicagem das mudas!**

-Custo:

R\$ 6.474,00



Autoclave

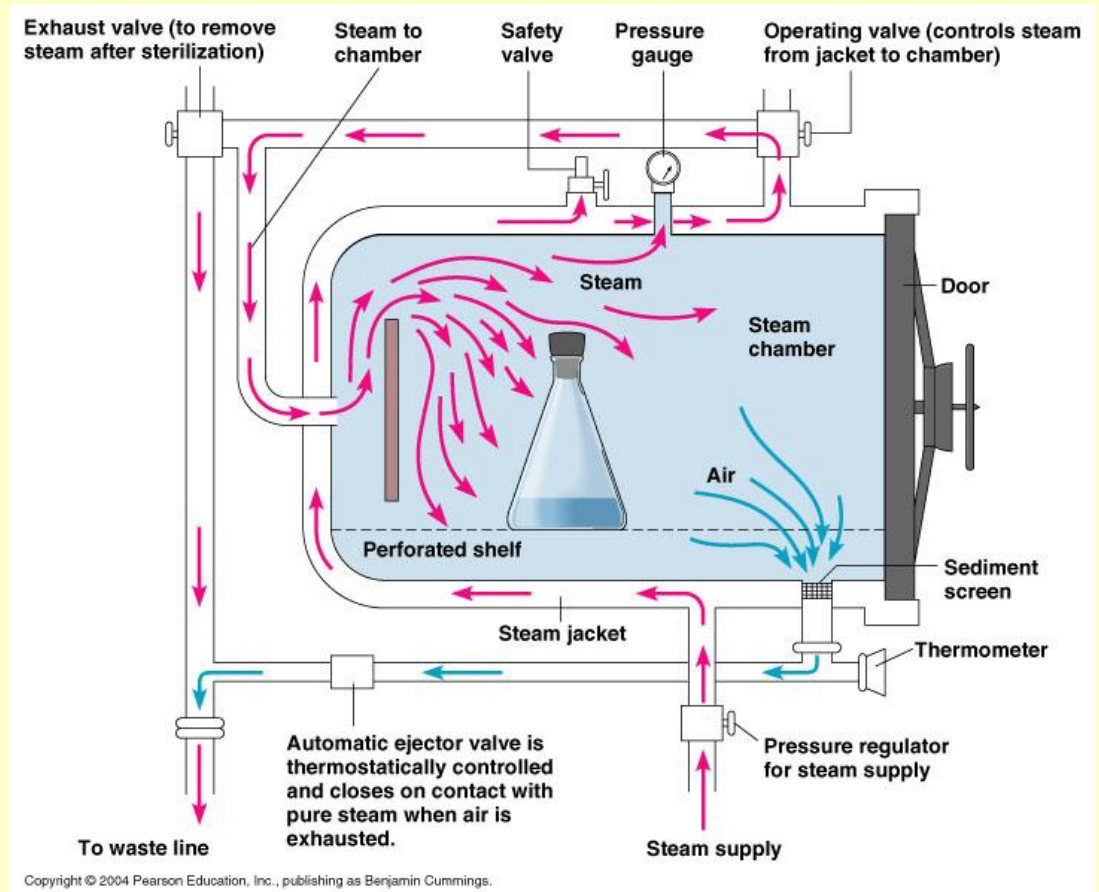
Funcionamento:

$T = 120\text{ }^{\circ}\text{C}$

$P = 1\text{ atm}$

Time = 20 min

→ **Esterilizar**
meio de cultura!



Autoclave



Custo:

R\$ 8.000,00 a R\$ 15.000,00

Plasma (R\$ 800.000,00)

Balança de Precisão

-> **Pesagem dos SAIS (Macro e micronutrientes)**

-0,00

-0,000

-0,0000



-Preço-> R\$ 1.500,00 a R\$ 2.500,00

Balança Analítica

-0,00

-0,000

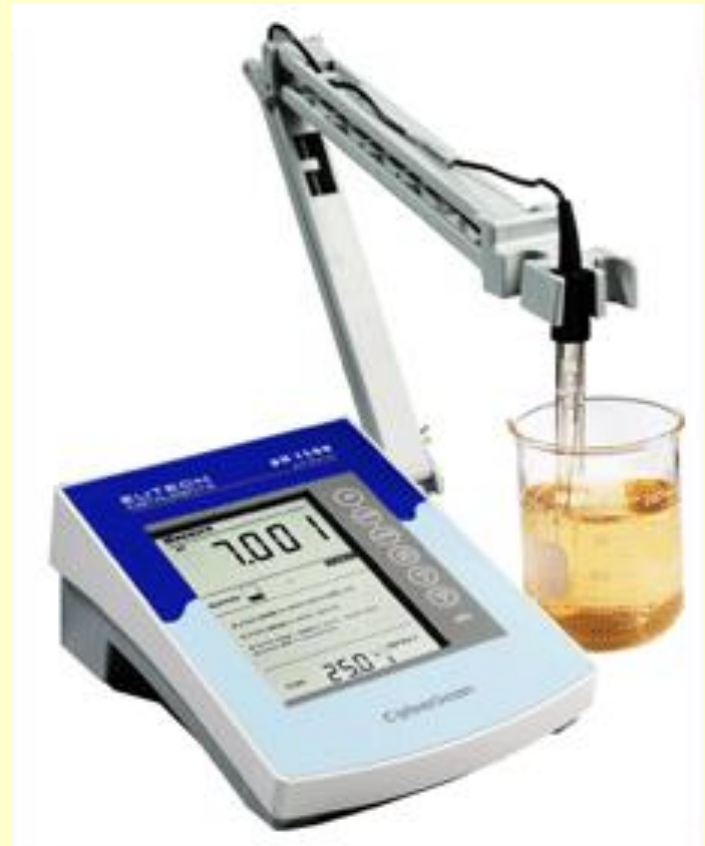
-0,0000

- Preço: R\$ 2.000,00 a R\$ 3.000,00



Medidor de pH

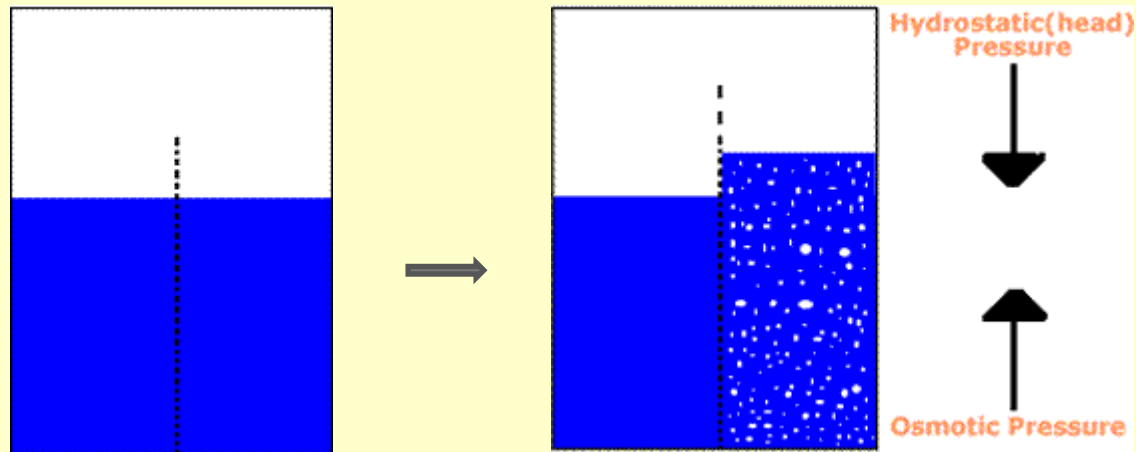
- Eletrodo parte + sensível!
 - Mede a condutividade elétrica que é convertida em pH.
 - Custo: R\$ 600,00 a R\$ 2.000,00
- Mede o pH do meio de cultivo!!**



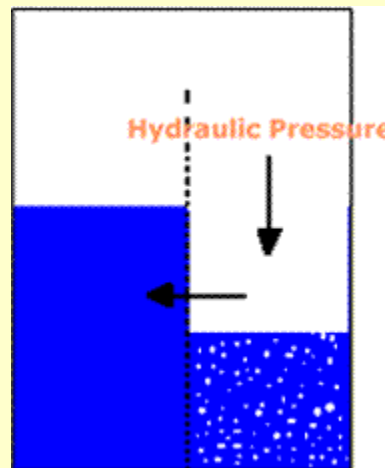


Qualidade da Água

Deionizador/Osmose reversa (eliminação de componentes orgânicos e inorgânicos da água).



Osmose Reversa



Qualidade da Água

Deionizador/Osmose reversa (eliminação de componentes orgânicos e inorgânicos da água).

Custo: R\$



Qualidade da Água

-Destilada;

-Deionizada;

?

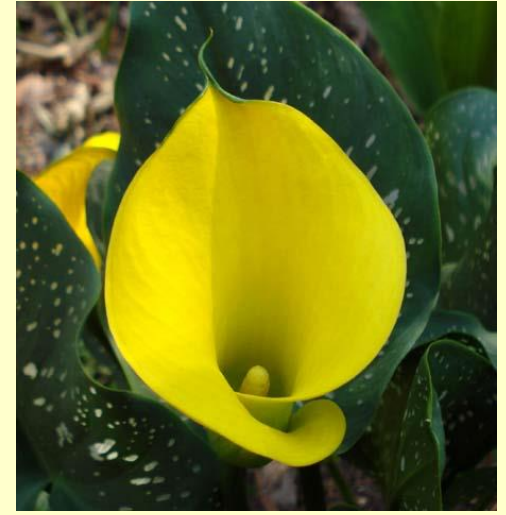
-Torneiral (Fe ou Na).

Outros equipamentos:

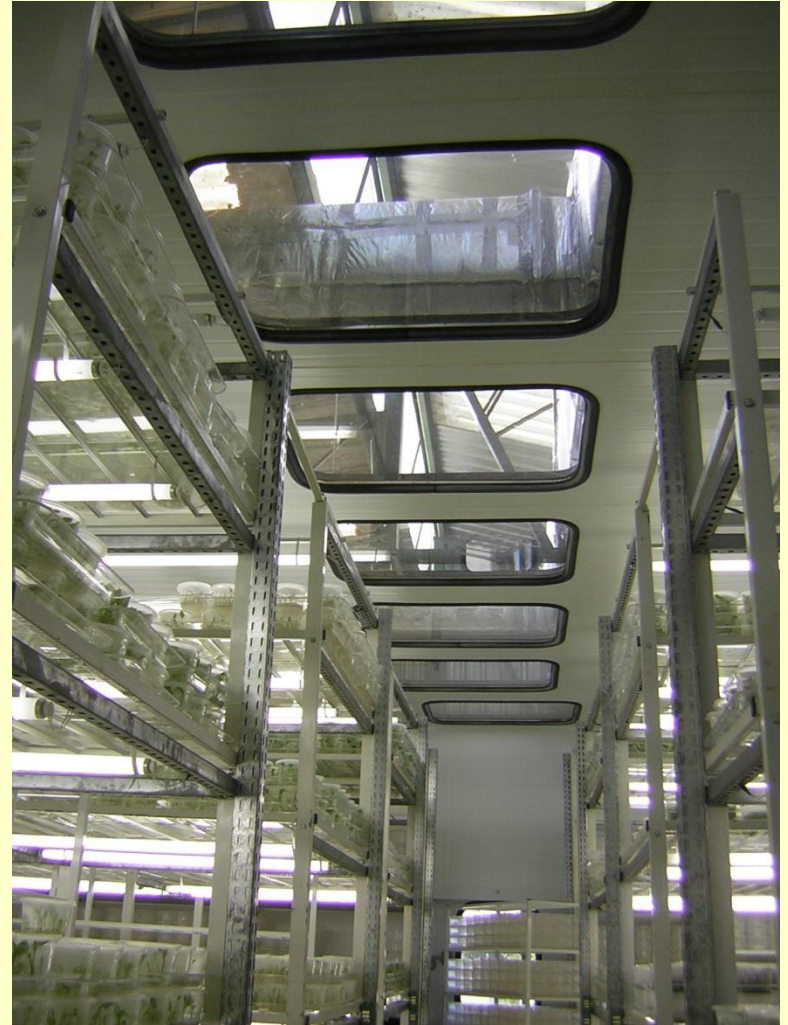
- Microondas/Fogão Industrial (panelão Inox);
- Agitador Magnético;
- Geladeira (Frost-Free);
- Ar condicionada;
- Distribuidor de meio de cultura;
- Barrilete;
- Carrinhos transporte (meio de cultura);
- Estufa;
- BOD (germinação e cultivo de calos);
- Etc

→ Total parcial *R\$ 40.500,00*

Produção de Zantedeschia



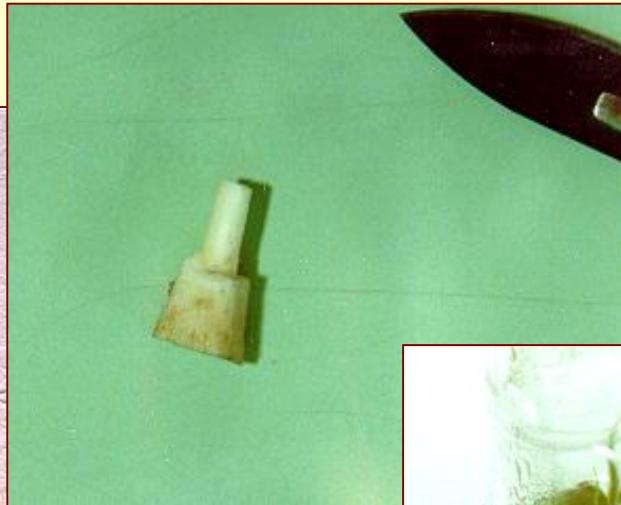
Produção de Zantedeschia



Produção de Zantedeschia



Micropropagação de Bananeira Ornamental



Introdução de bromélias *in vitro*



Vrisea guttata



Vrisea hieroglyphica



Vrisea unilateralis

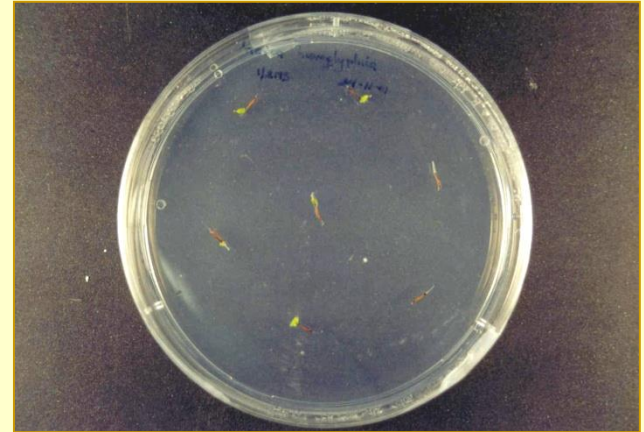


Nidularium fulgens

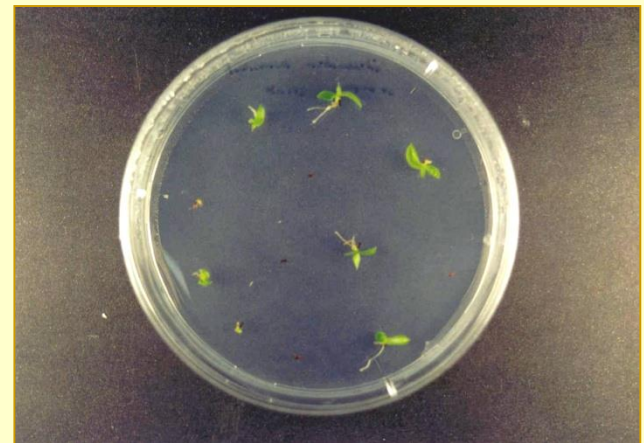
Introdução de bromélias *in vitro*



Vrisea hieroglyphica



Vrisea hieroglyphica



Aechmea nudicaulis

Micropropagação de Bromélias



Cultura de tecidos vegetais em plantas ornamentais tropicais



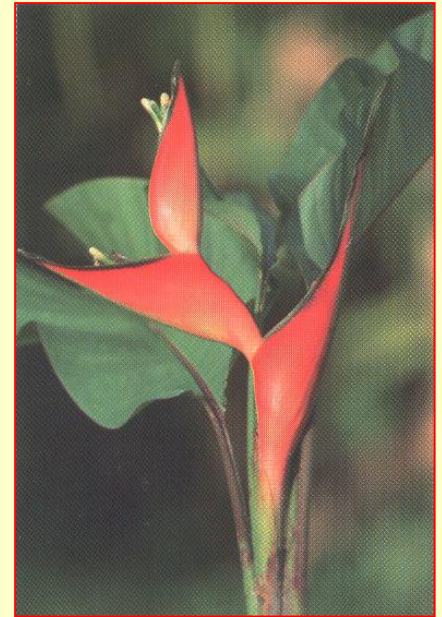
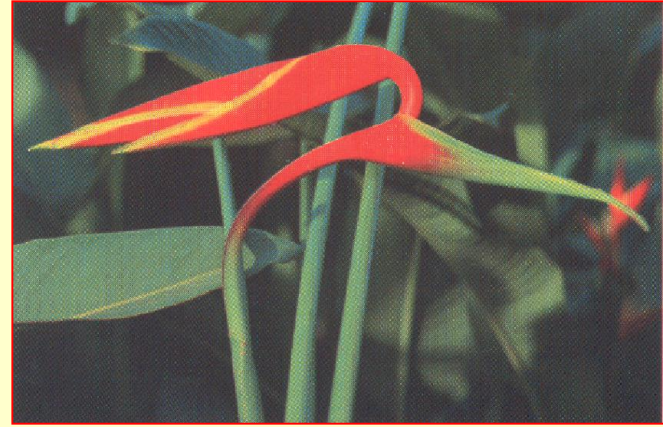
Prof. Dr. Paulo Hercílio Viegas Rodrigues

Table 1 – Identification of bacterial contamination and antibiogram of *Heliconia rauliniana* explants cultured *in vitro*.

Explant	Bacteria	Sensibility degree				
		Sensible		Less Sensible		Resistent
<u>Stem</u> <u>Apex</u>	<i>Pseudomonas</i> sp.	AMI,	ATM,	CAZ,	AMP	CFL
		CFD,	CTX,	CLO,		
		GN,	NET,	SUT, TB,		
		TET				
	<i>Klebsiella</i> sp.	AMI,	ATM,	CAZ,	-----	AMP, CFL,
		CLO,	CTX,	GN,		CFD
		NET,	SUT,	TB, TET		

AMI - Amicacine, AMP – Ampiciline, ATM - Aztreonam, CAZ - Ceftazitime, CLO – chloramphenicol, CFD – Cefalodril, CFL – Cefalexine, CTX - Cefotaxime, GN – Gentamicine, NET – Netilmicine, SUT - Sulfameto xazol /Trimetropim , TB - Tobramicine , TET – Tetraciline

Helicônias



PROPAGAÇÃO IN VITRO DE HELICÔNIAS

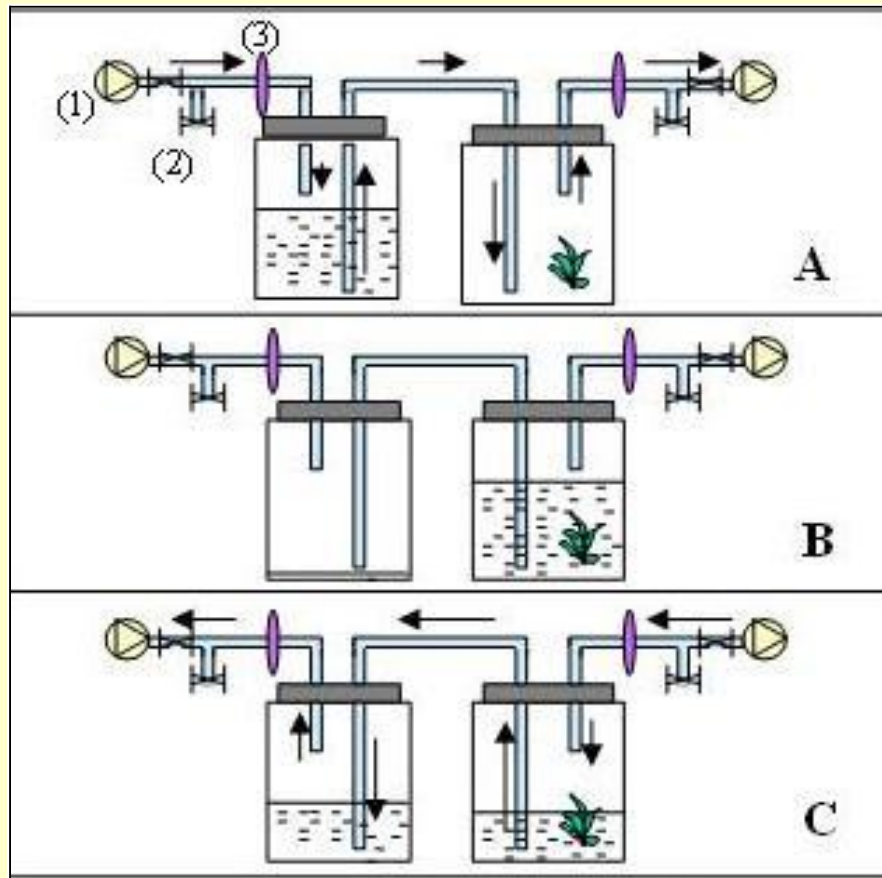
MÉTODOS CONVENCIONAL E DE IMERSÃO TEMPORÁRIA.



PROPAGAÇÃO *IN VITRO* EMPREGANDO IMERSÃO TEMPORÁRIA.



Propagação em larga escala:



Propagação em larga escala: TIB



Unidades Experimentais (250ml)

Propagação em larga escala: TIB



Escala semi-comercial (4,5l)

Propagação em larga escala: TIB



Escala comercial (50l)



Recursos Genéticos e Biotecnologia

CENARGEN

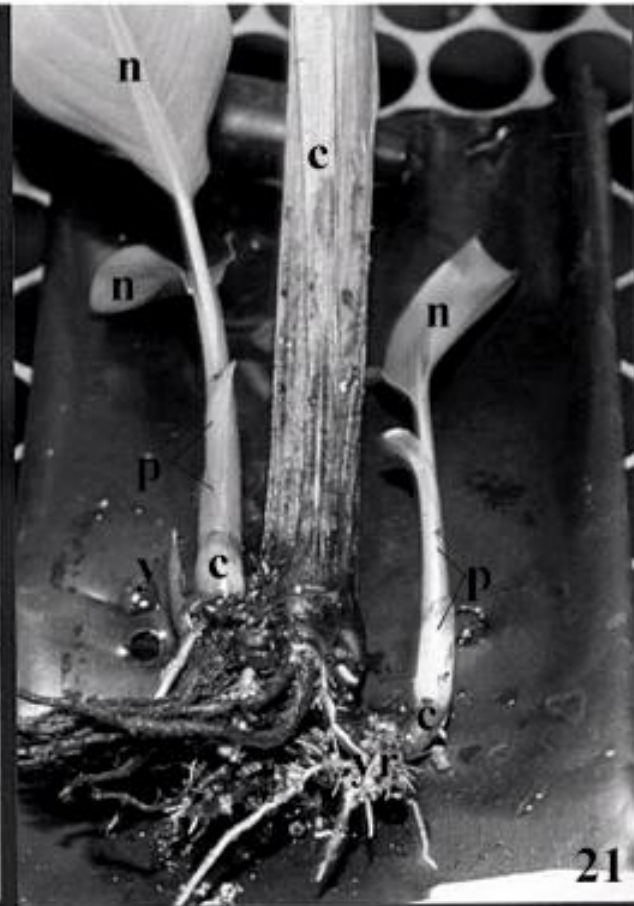


PROPAGAÇÃO CONVENCIONAL:

PREPARAÇÃO DOS RIZOMAS



Material Propagativo de helicônia

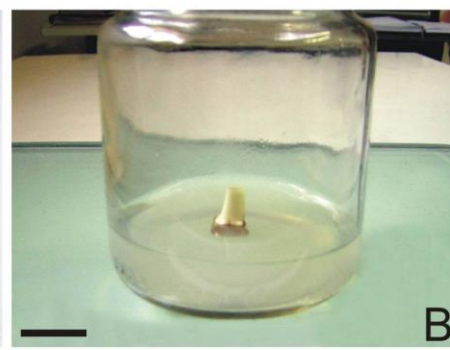
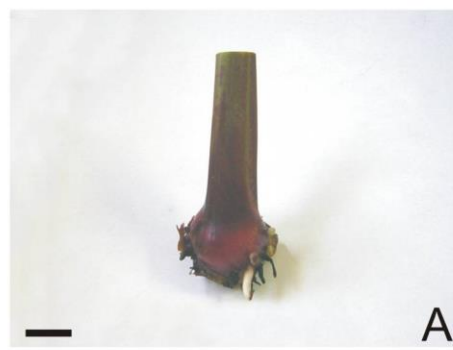


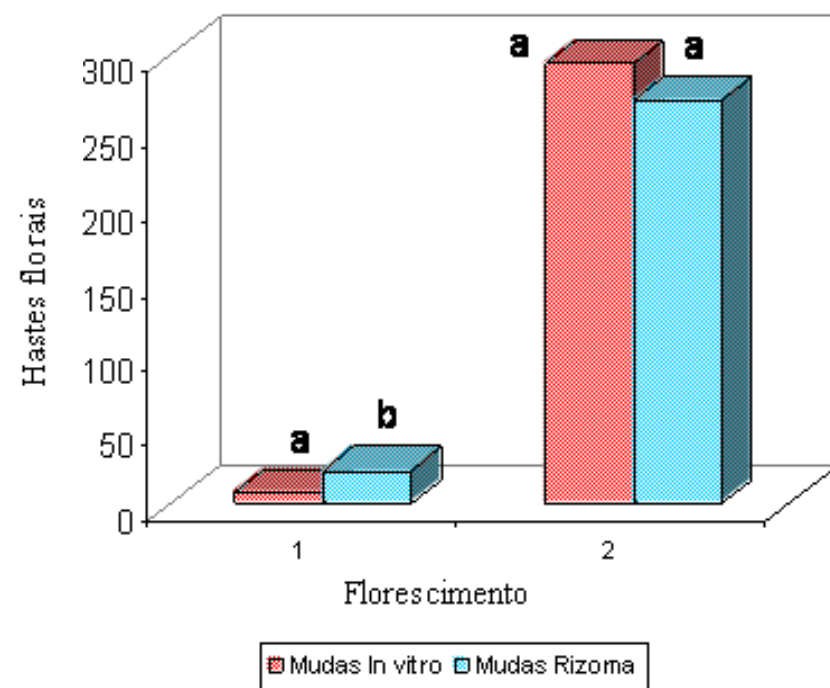
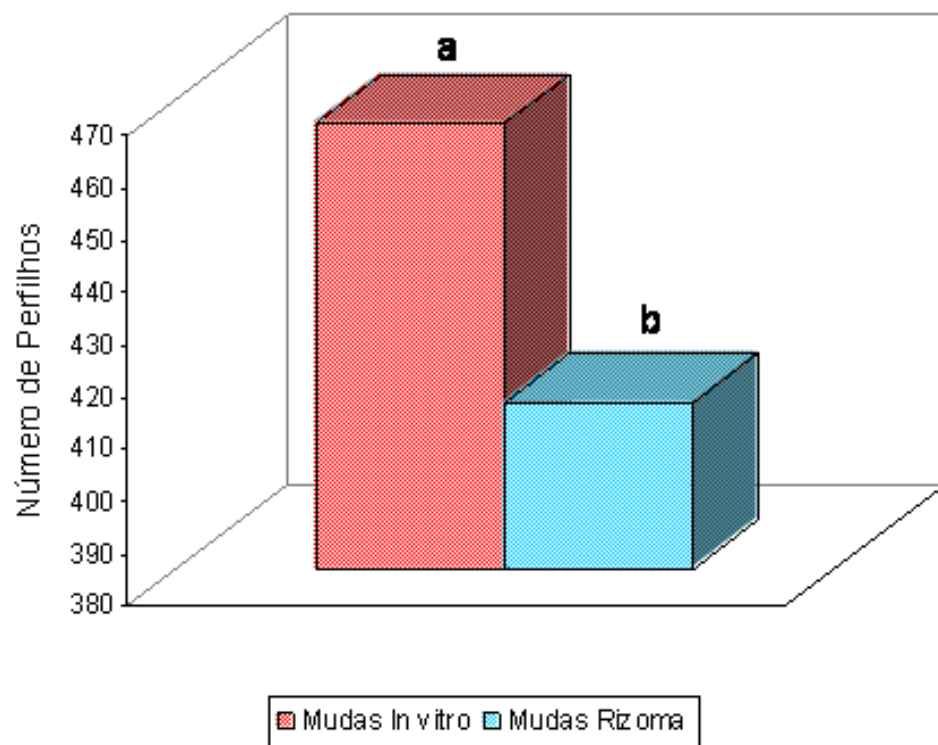
**Mudas Aclimatizadas de
H. champneiana "Splash", em bandejas,
prontas para o Plantio.**



Plantio de *H.rauliniana* com 100% de mudas micropropagadas.



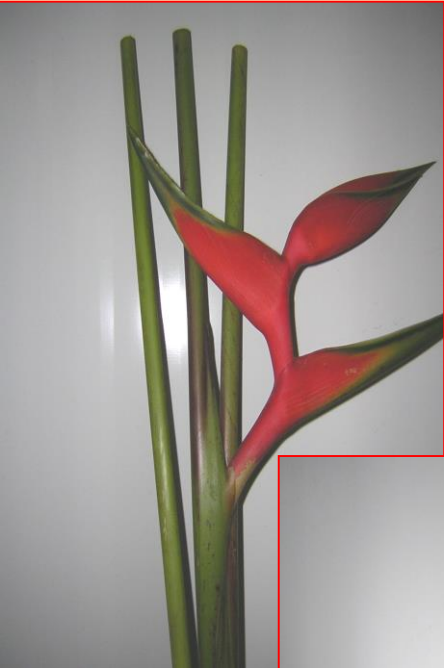




Variantes Somaclonais de *H.bihai*, obtidas *in vitro*.



Variantes Somaclonais de *H. bihai*, obtidas *in vitro*.

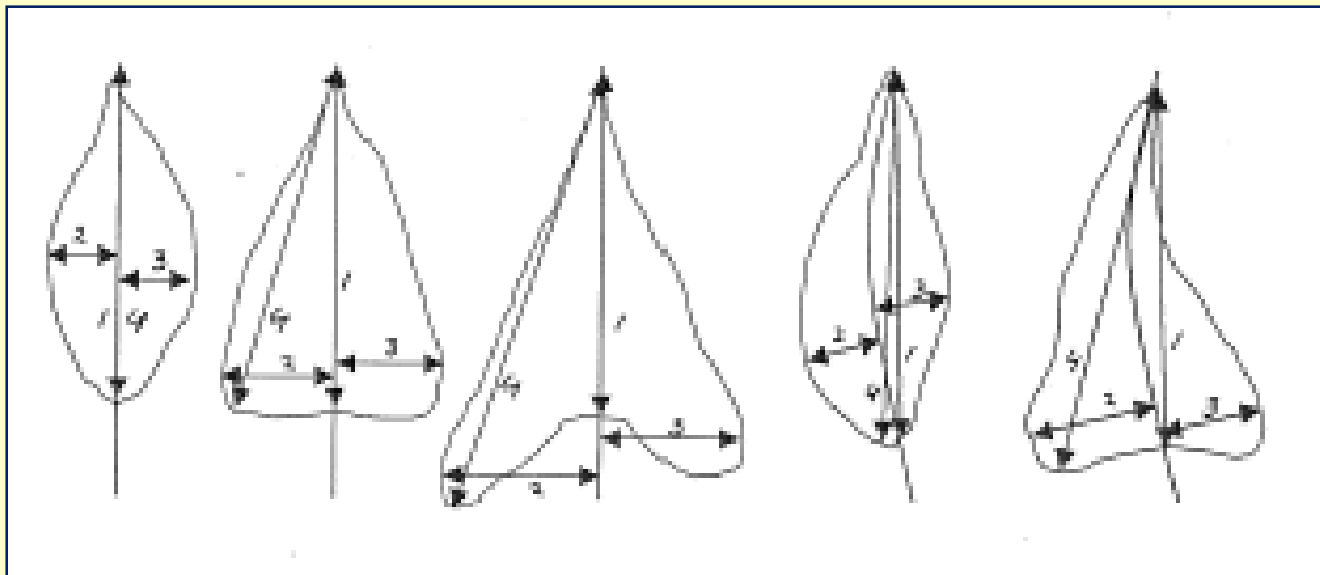


Variabilidade genética que ocorre em decorrência do processo *in vitro*!

→ repicagens, reguladores de crescimento e tempo de cultivo.

Melhoramento Vegetal

Formato das folhas como indicativo de variação





Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais
Centro de Biotecnologia da Amazônia.



Dr. Paulo Hercilio Viegas Rodrigues

Centro de Biotecnologia da Amazônia



- MCT
- MMA
- MDIC
- MDA
- MS
- Mapa



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Centro de Biotecnologia da Amazônia



Microorganismos endofíticos em helicônias

- Região Nordeste: *Pseudomonas* e *Klebsiela*.
- Região Norte: *Pseudomonas* , *Klebsiela* e *Stenotrofomonas*.

Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



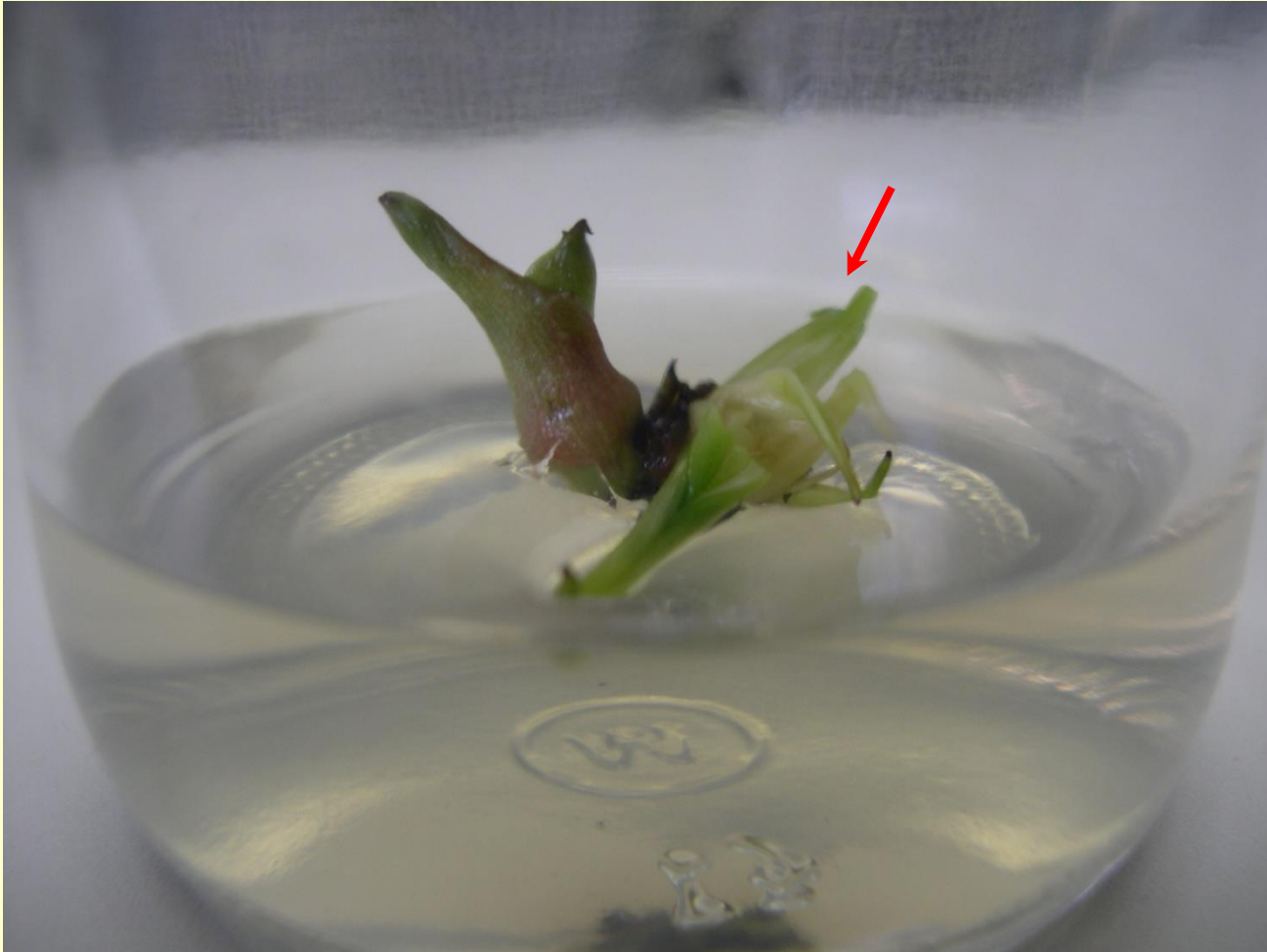
Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



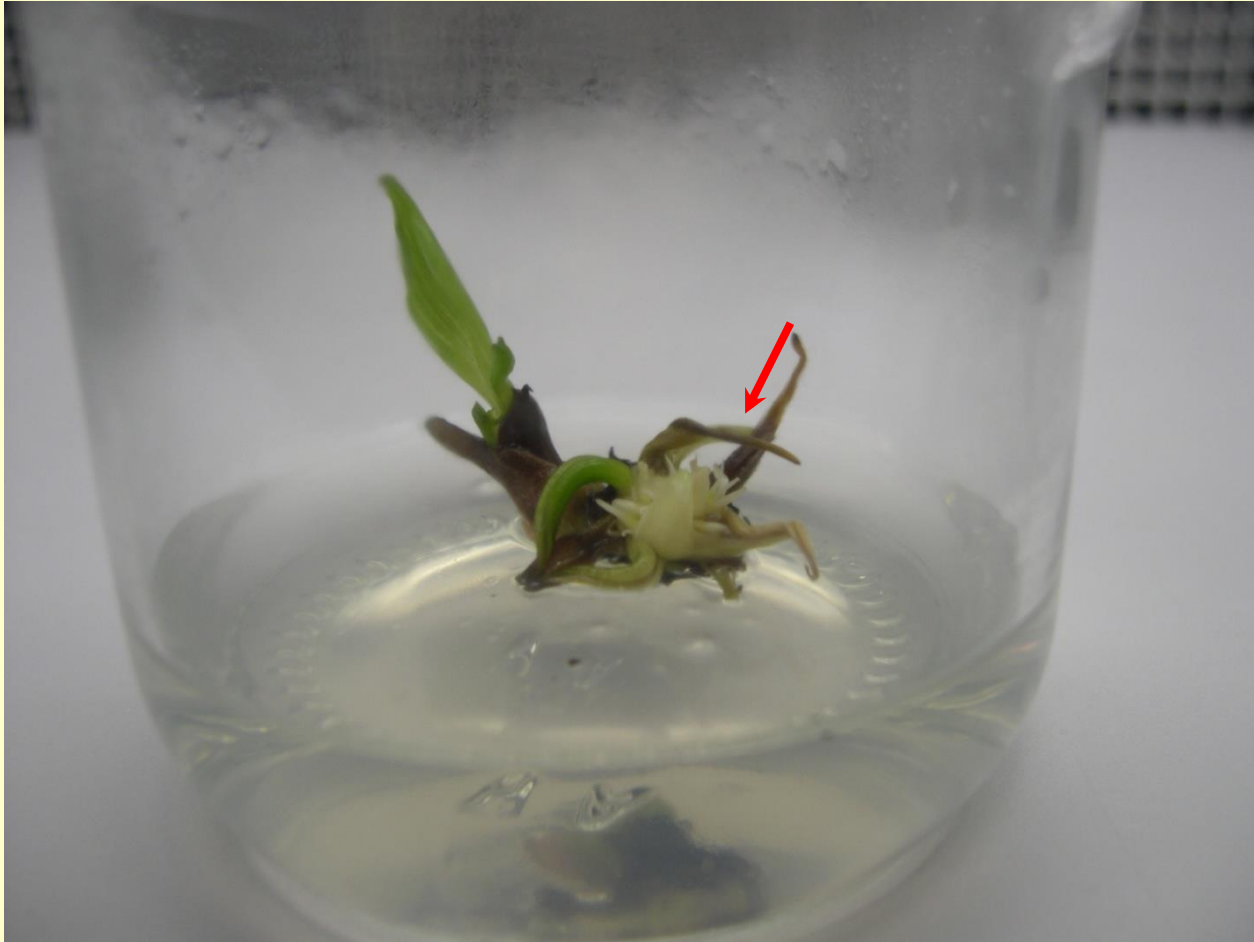
Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



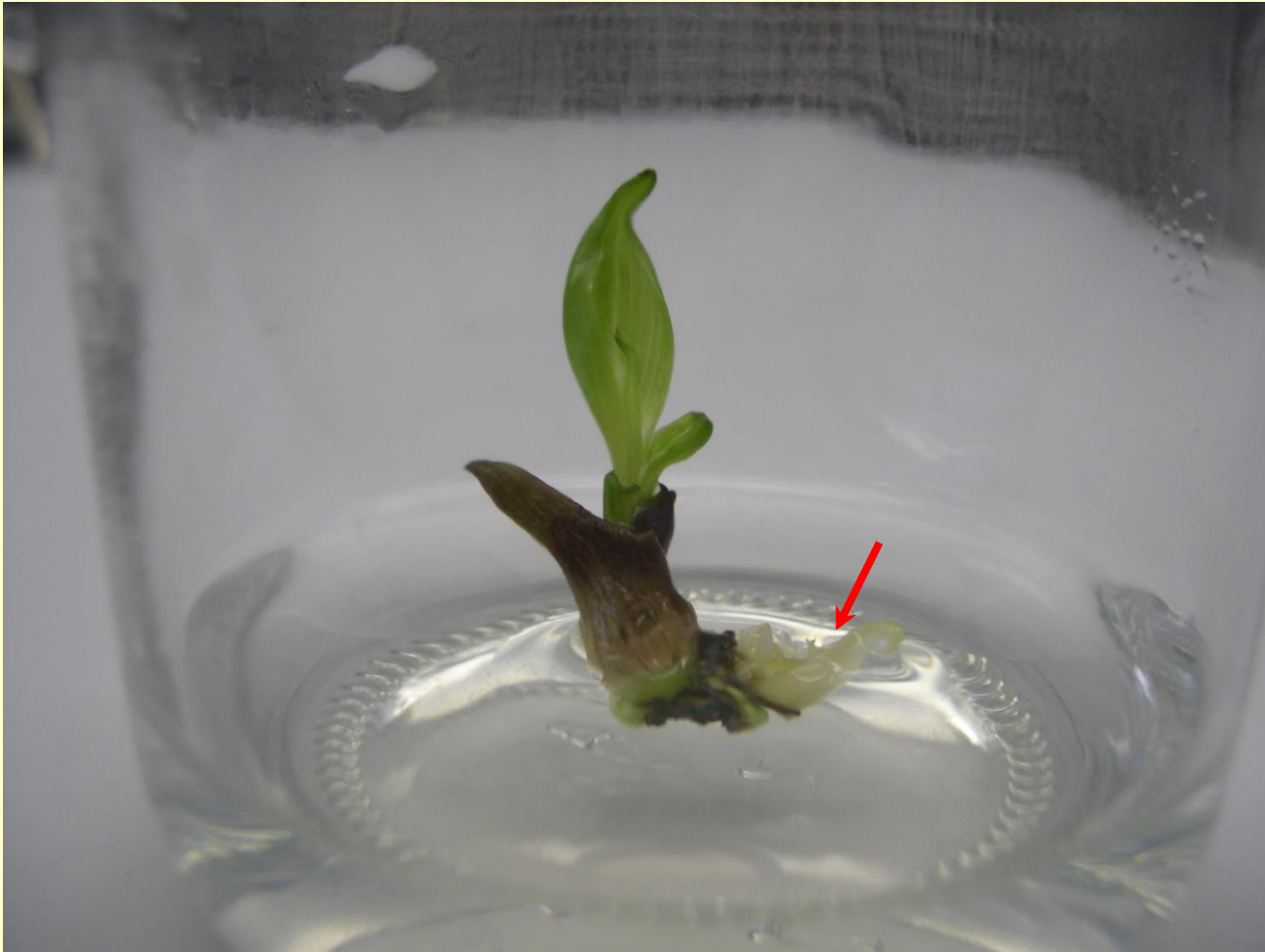
Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



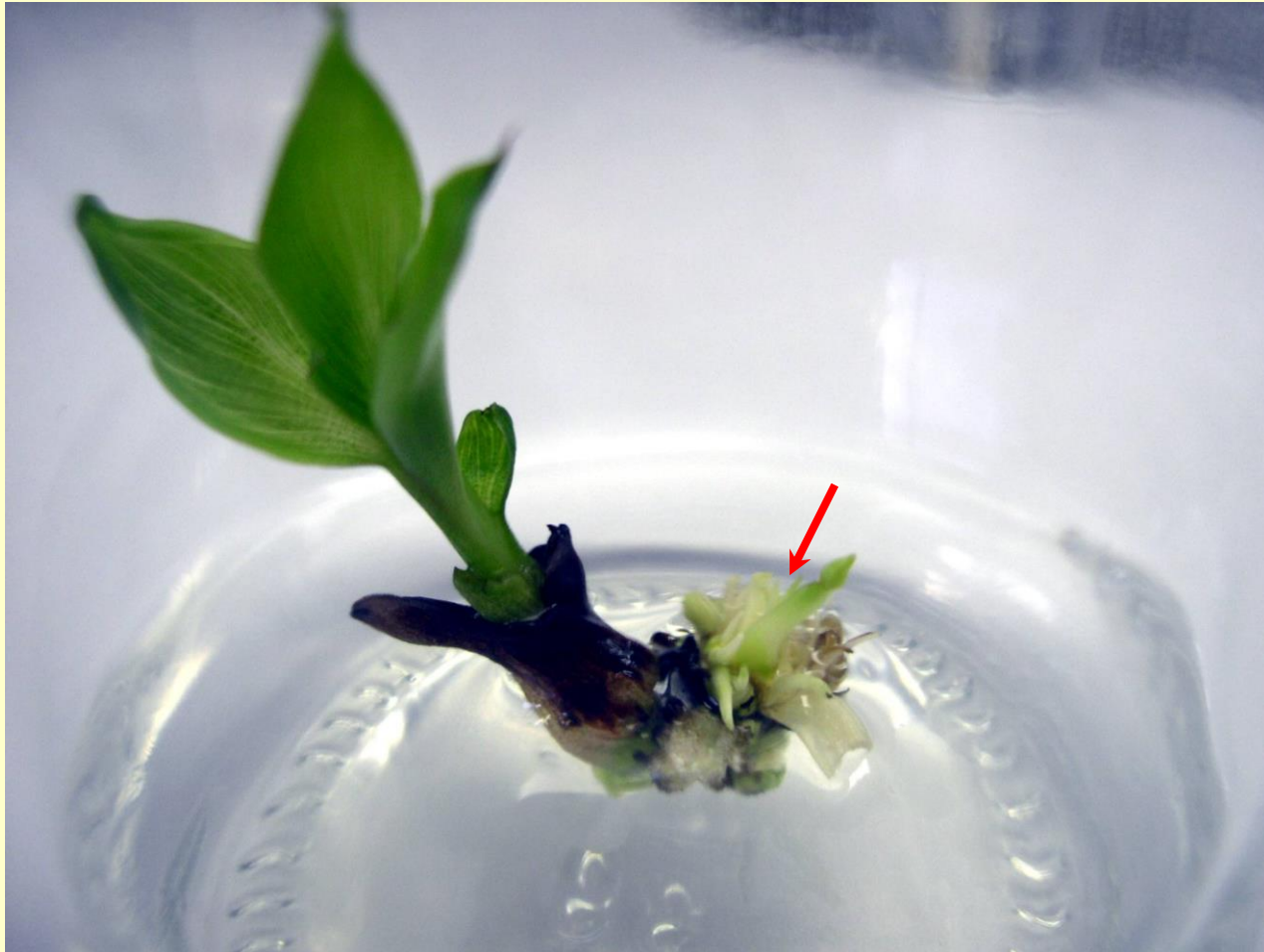
Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



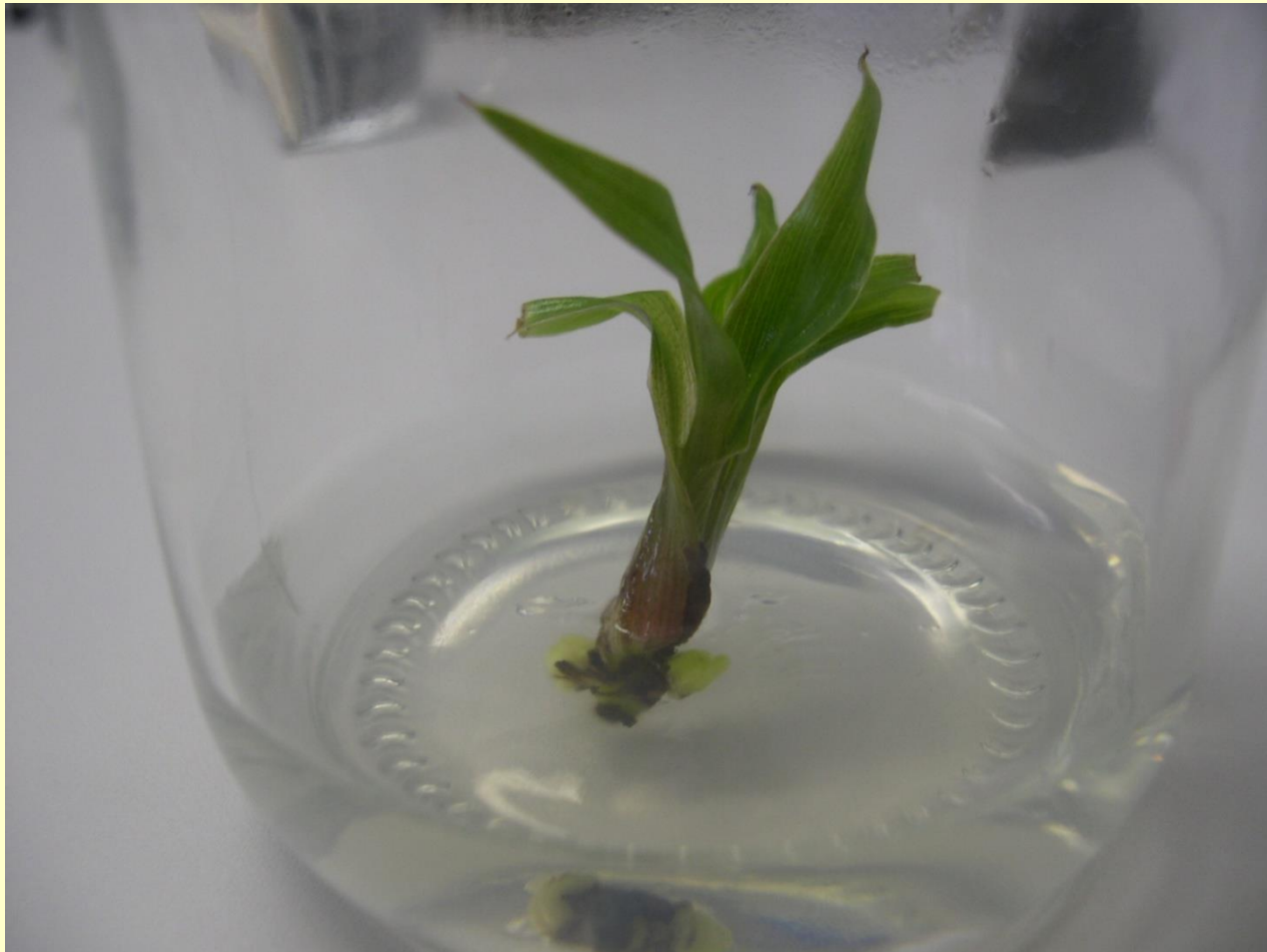
Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



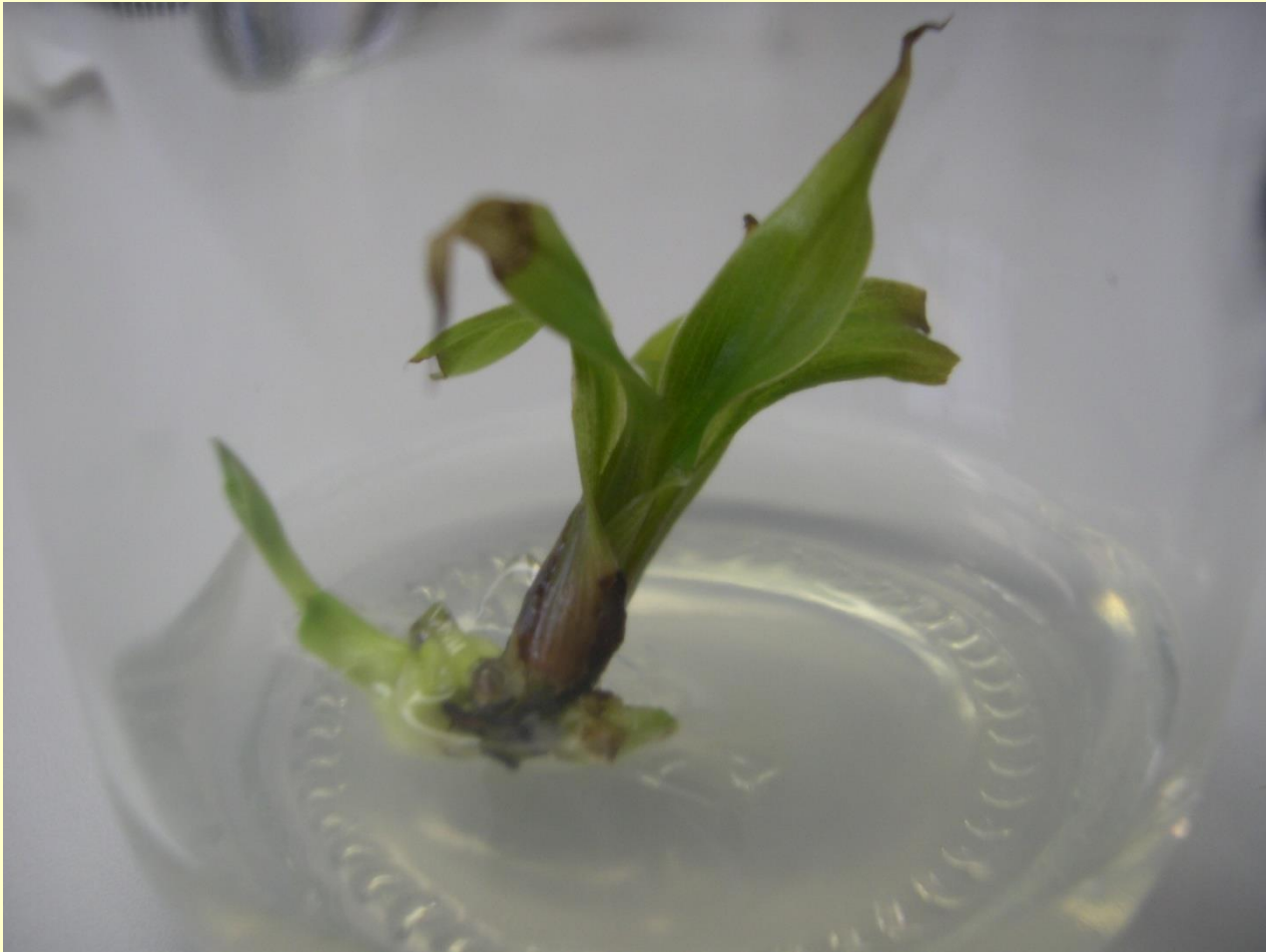
Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Estabelecimento *in vitro* a partir de ápice floral



Resgate de Embrião (*in vitro*) de helicônia

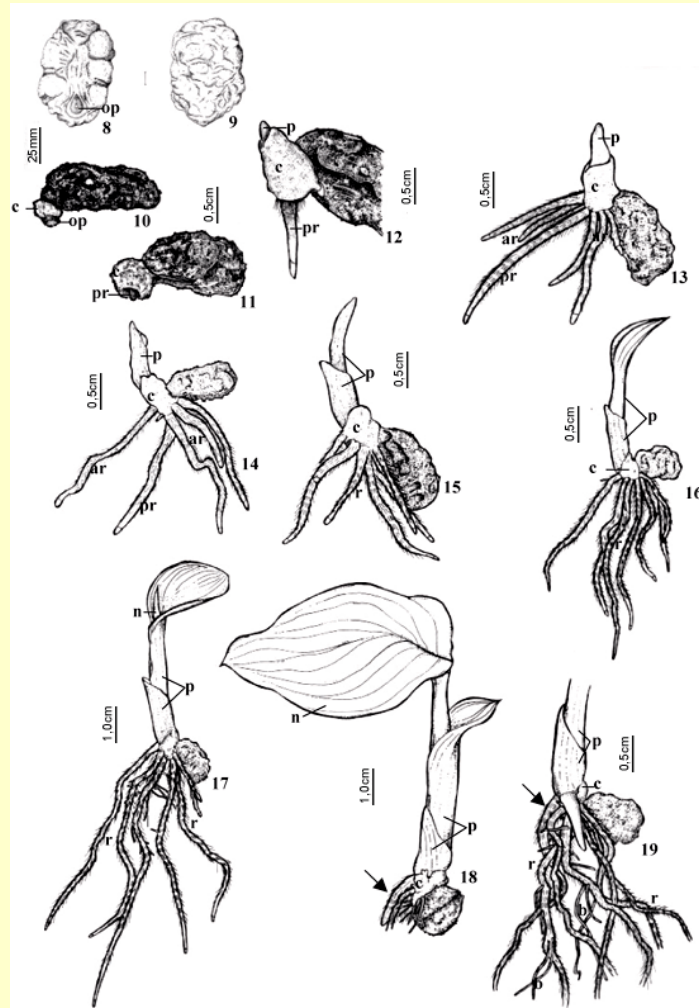


Figure 8-19 - Post-seminal development of *H. velloziana*. Ventral (Fig.8) and dorsal (Fig.9) views of the diaspore. Beginning of the germination period (Figs.10-11). Seedlings with 8-10 days (Fig. 12); 12-14 days (Fig. 13); 16-18 days (Fig. 14); 20-24 days (Figs.15-16); 26-30 days (Fig.17) and 32-36 days (Fig. 18). Detail of roots with 32-36 days (Fig. 19). ar= adventitious roots; b = branching roots; cs= cotyledonary sheath; n=nomophyll; op=operculum; p=protophyll; pr=primary root; r=roots; arrows= larger roots.

Frutos de Heliconia...





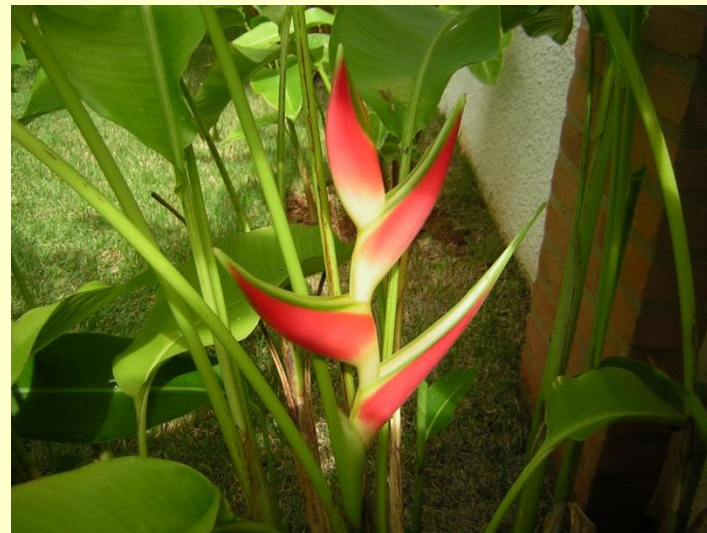
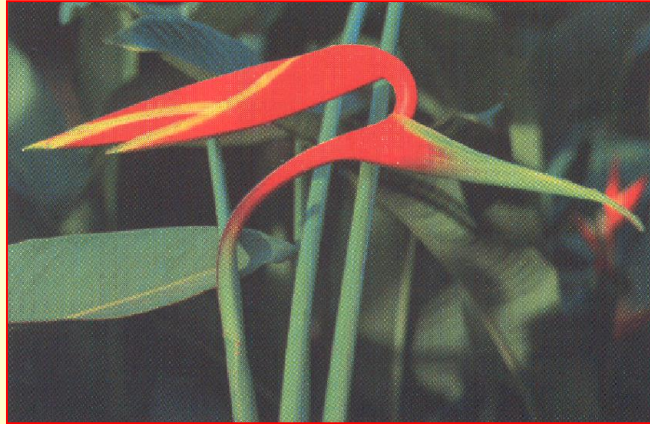
Resgate de Embrião (*in vitro*) de helicônia



Resgate de Embrião (*in vitro*) de helicônia



Helicônias



Centro de Biotecnologia da Amazônia



■ Bromeliacea

■ Curauá





Rodrigues, Paulo Hercílio Viegas, Ferreira, Flávio Freires, Ambrosano, Glaucia Maria Bovi, & Gato, Arlena Maria Guimarães. (2013). **Propagação in vitro de tucumã do Amazonas**. Ciência Rural, 43(1), 55-59. Epub November 27, 2012. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012005000143>

■ *X cabocquinho*



BioSol SEBRAE/CBA



Projeto Estruturante da Região Norte
de Flores Tropicais da Amazônia

BioSol SEBRAE/CBA



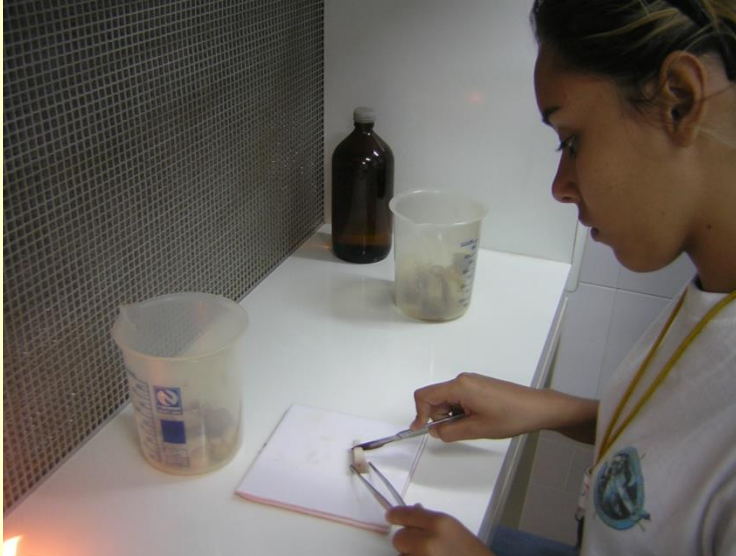
BioSol SEBRAE/CBA



BioSol SEBRAE/CBA



BioSol SEBRAE/CBA



BioSol
SEBRAE/CBA



BioSol SEBRAE/CBA



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



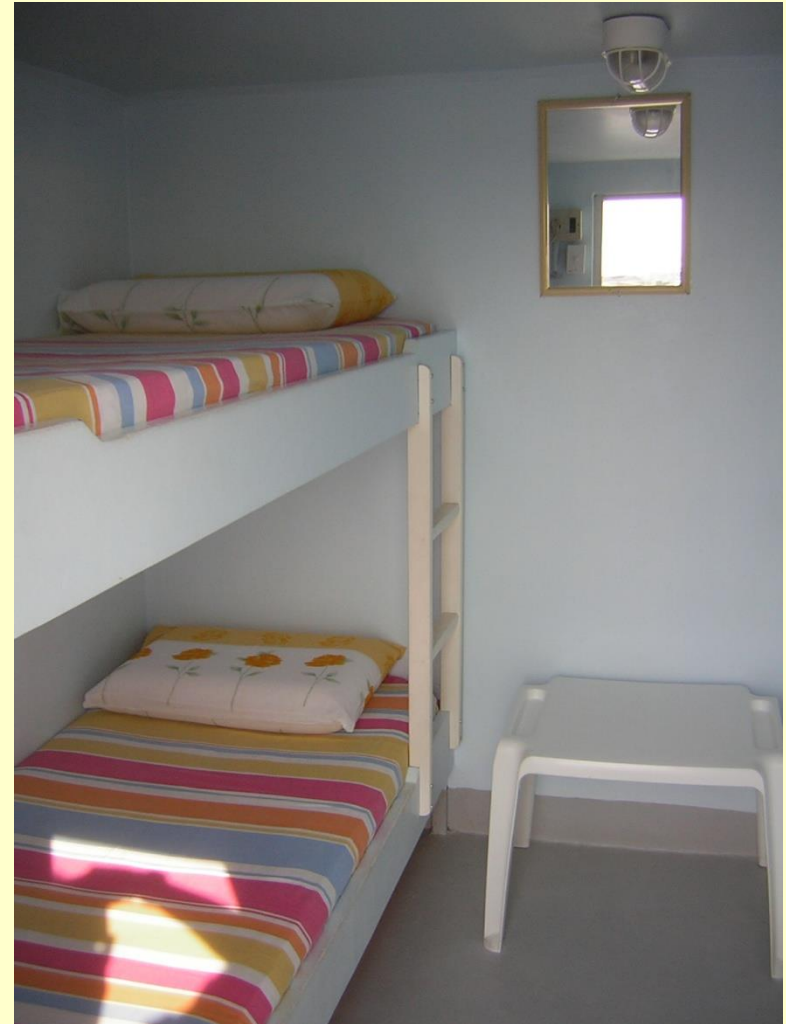
“Mudas da Amazônia”

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



“Mudas da Amazônia”

Nova Olinda do Norte-AM



"Mudas da Amazônia"

Nova Olinda do Norte-AM



"Frutopia"

Campos do Jordão - SP

1.700 mts Altitude

