



SOBRE2018

**II Conferência Brasileira
de Restauração Ecológica**

**X Simpósio Brasileiro sobre
Tecnologia de Sementes Florestais**



Universidade Federal
de São João del-Rei

"Criopreservação e produção de sementes sintéticas *in vitro* como alternativa de conservação de espécies recalcitrantes"

Dra Evânia Galvão Mendonça

Novembro, 2018

➤ Sementes Recalcitrantes

Perdem a viabilidade em poucos dias ou meses, após serem armazenadas e não toleram temperaturas abaixo de zero (Chin e Roberts, 1980).

Como conservar essas espécies com a finalidade de suprir a demanda de mudas para fins comerciais, reflorestamento e recuperação de áreas degradadas, mantendo a qualidade fisiológica?



<http://www.paradorhampel.com>



<http://www.ciflorestas.com.br>



<http://naturezadivina.org.br>

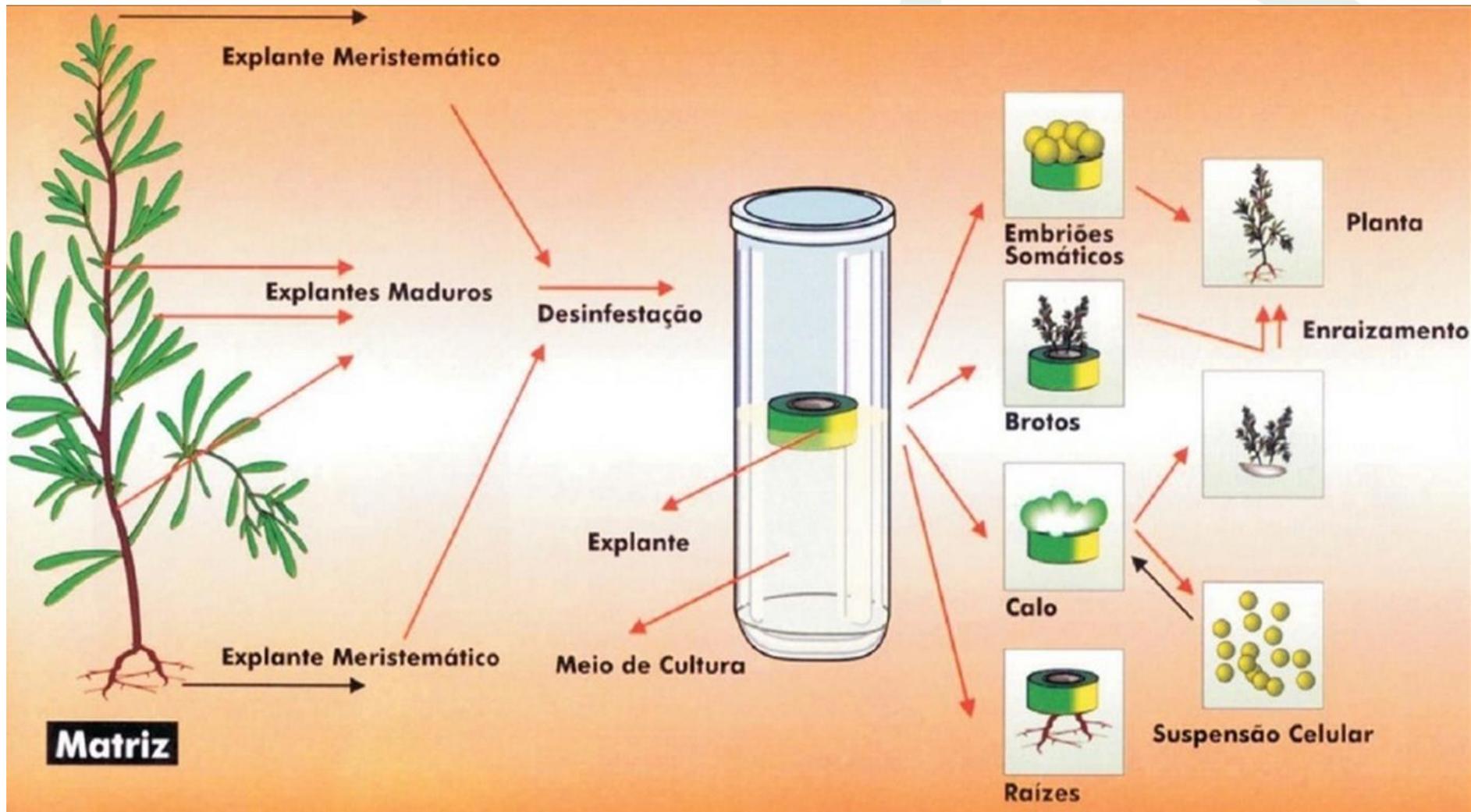


<https://www.bhmudas.com.br>



Mata et al., 2013

Técnicas de cultivo *in vitro*



Semente artificial

Análoga a semente botânica, consistindo um embrião somático envolto por uma ou mais camadas artificiais, formando uma cápsula (Souza et al., 2014).



Embriogênese Somática

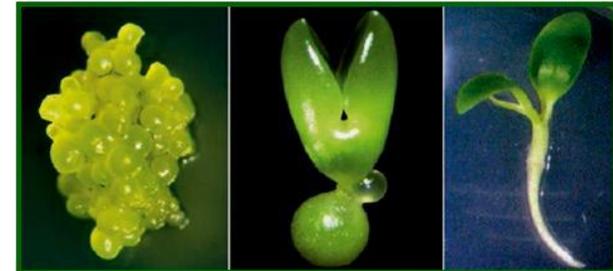
Consiste no processo em que células haploides ou somáticas passam por diferentes estádios embriogênicos dando origem a uma planta, sem que ocorra a fusão de gametas (Williams e Maheswaran, 1986).



Direto



Indireto



Fonte: Cheng e Chang (2006)

Desenvolvimento de embriões zigóticos e somáticos

pró-embrião ————— estágio embrionário —————> maduro

Zigótica



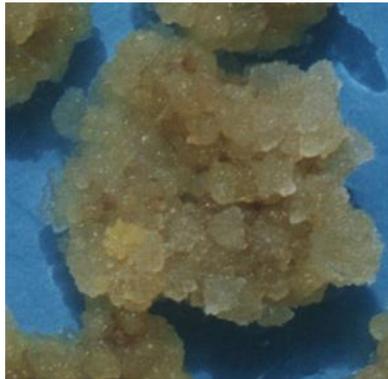
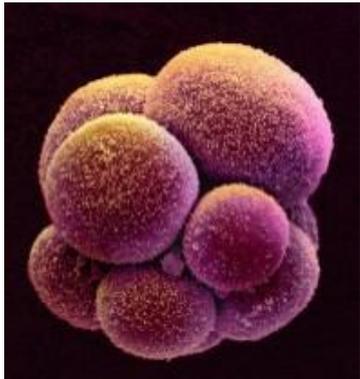
Somática



Embriogênese Somática

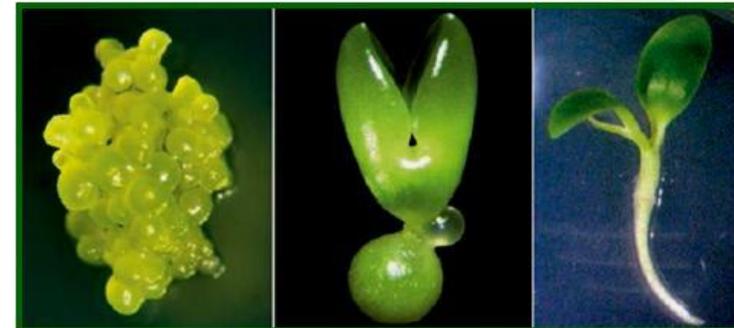
Este processo constitui um exemplo da expressão da totipotencialidade das células das plantas, postulado por Haberlandt (1902).

“Cada célula somática possui o potencial genético para reconstituir um organismo inteiro”.



Fases da embriogênese somática

- ✓ **Indução** - reprogramação celular, auxinas, explante, meio de cultura
- ✓ **Proliferação** - embriogênese repetitiva
- ✓ **Diferenciação** - remoção dos reguladores, stress osmótico, níveis endógenos de auxina
- ✓ **Maturação** - acúmulo de reservas, redução do metabolismo, redução do conteúdo de água
- ✓ **Germinação** - desenvolvimento dos ápices caulinares e radiculares
- ✓ **Conversão** - formação de plantas



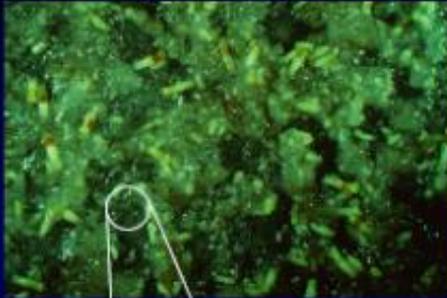
Formação da semente sintética

- 1) Propiciar proteção contra danos mecânicos
- 2) Fornecer nutrientes ao embrião



SEMENTES SINTÉTICAS

Seleção do explante



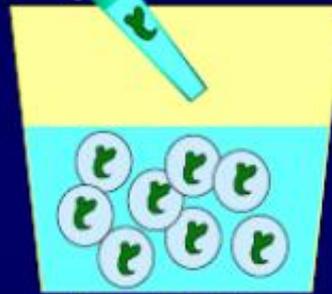
Indiviualização



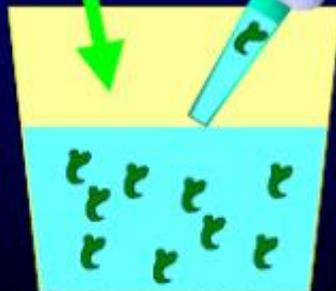
Captura com micropipeta



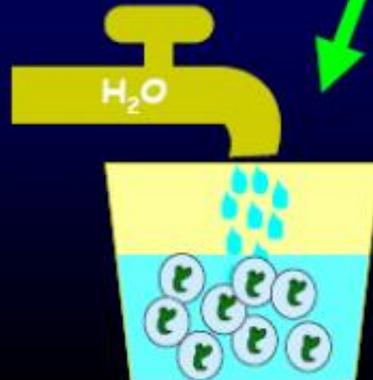
Complexação em (CaCl_2) (50 mM) por 15 minutos



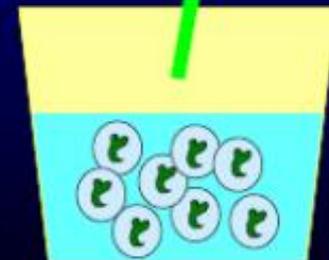
Solução de Alginato de Sódio (2%) + Componentes



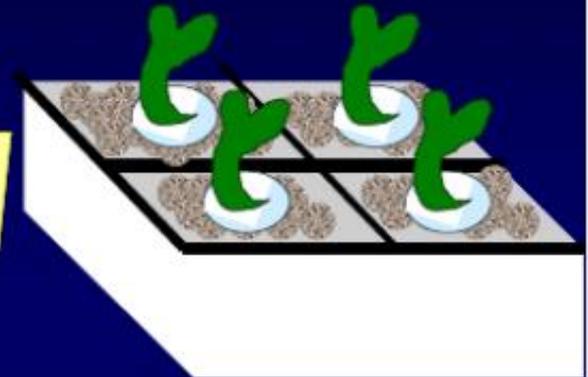
H_2O

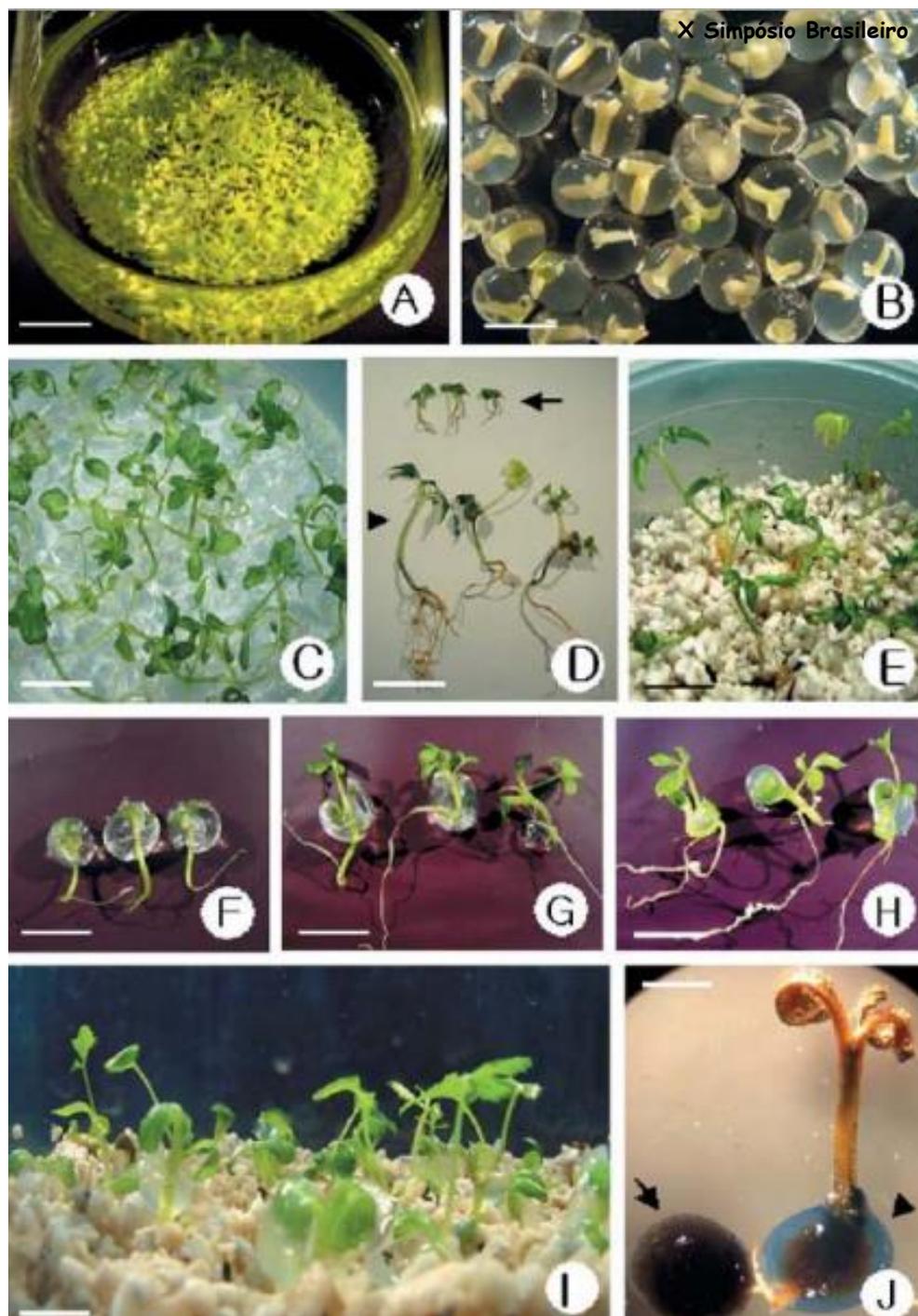


Descomplexação em KNO_3 (100 mM) por 30 minutos

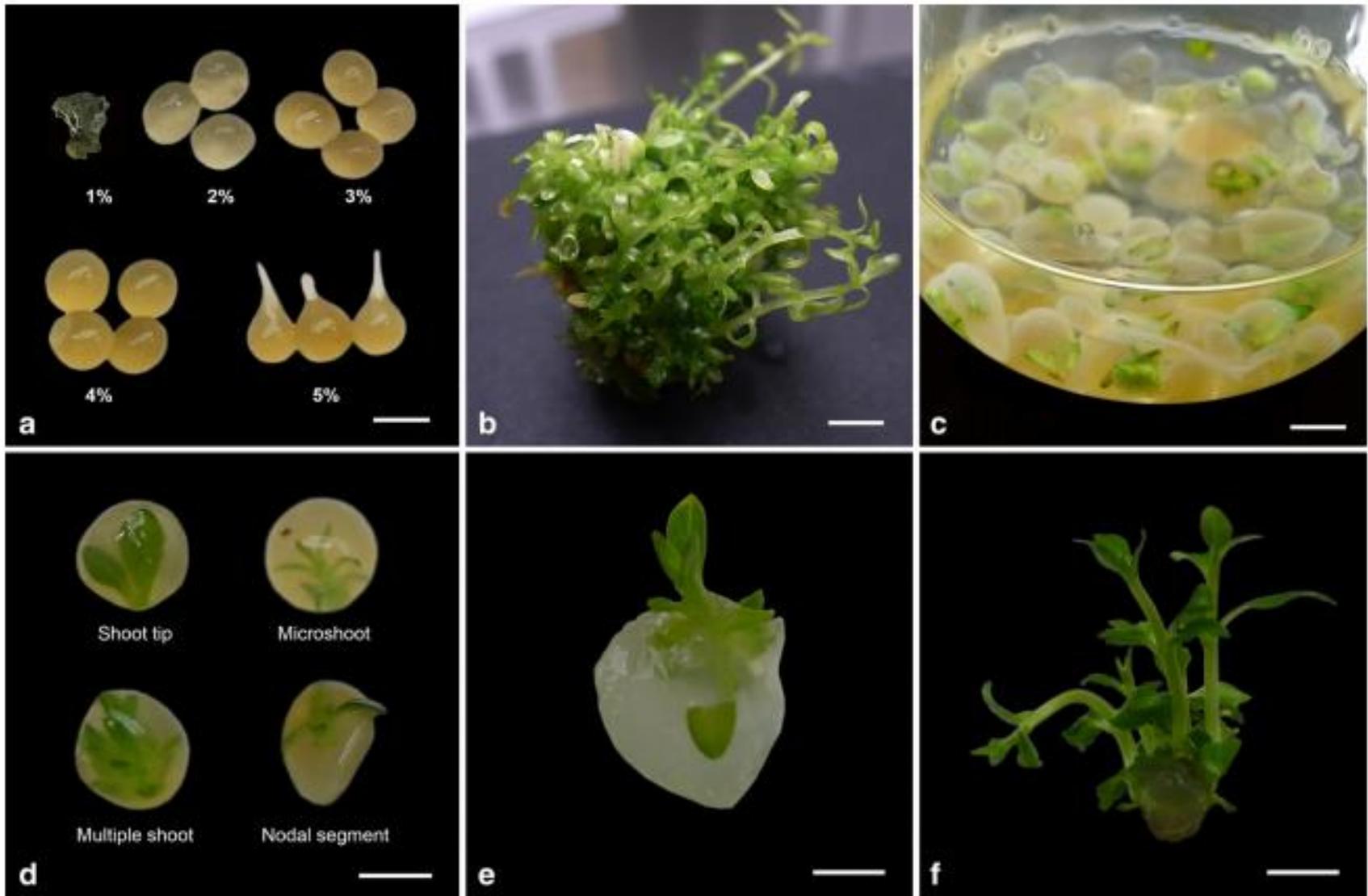


Germinação em bandejas com substrato FITOTRON – CASA DE VEGETAÇÃO

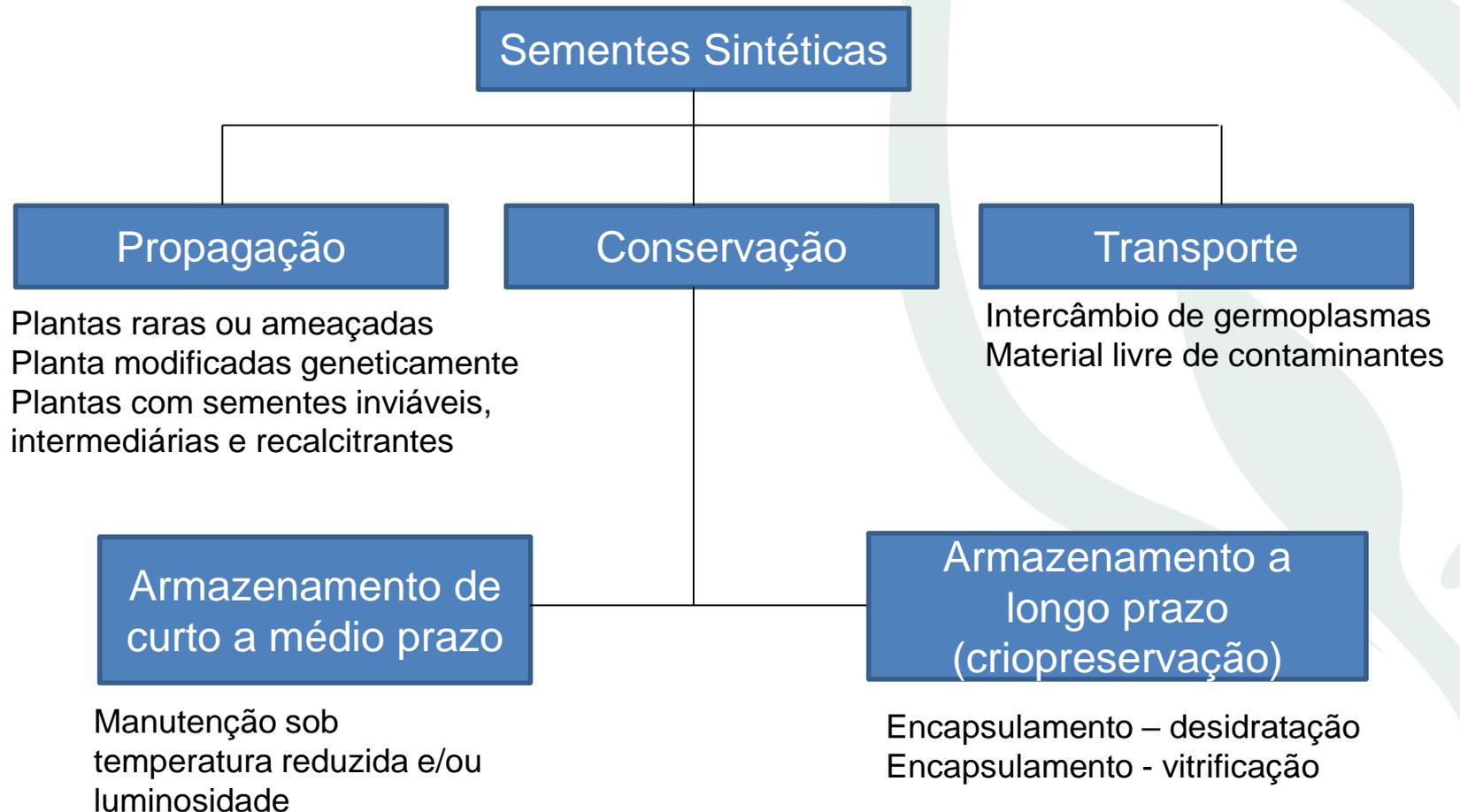




Unidades encapsuláveis



Tecnologia das sementes sintéticas e suas aplicações



Criopreservação

Conservação de material biológico em nitrogênio líquido (-196 °C) ou em fase de vapor (-150 °C) (Lombardi, 2005; Pieruzzi, 2013).

Redução metabólica em temperaturas criogênicas
– armazenamento por tempo ilimitado.

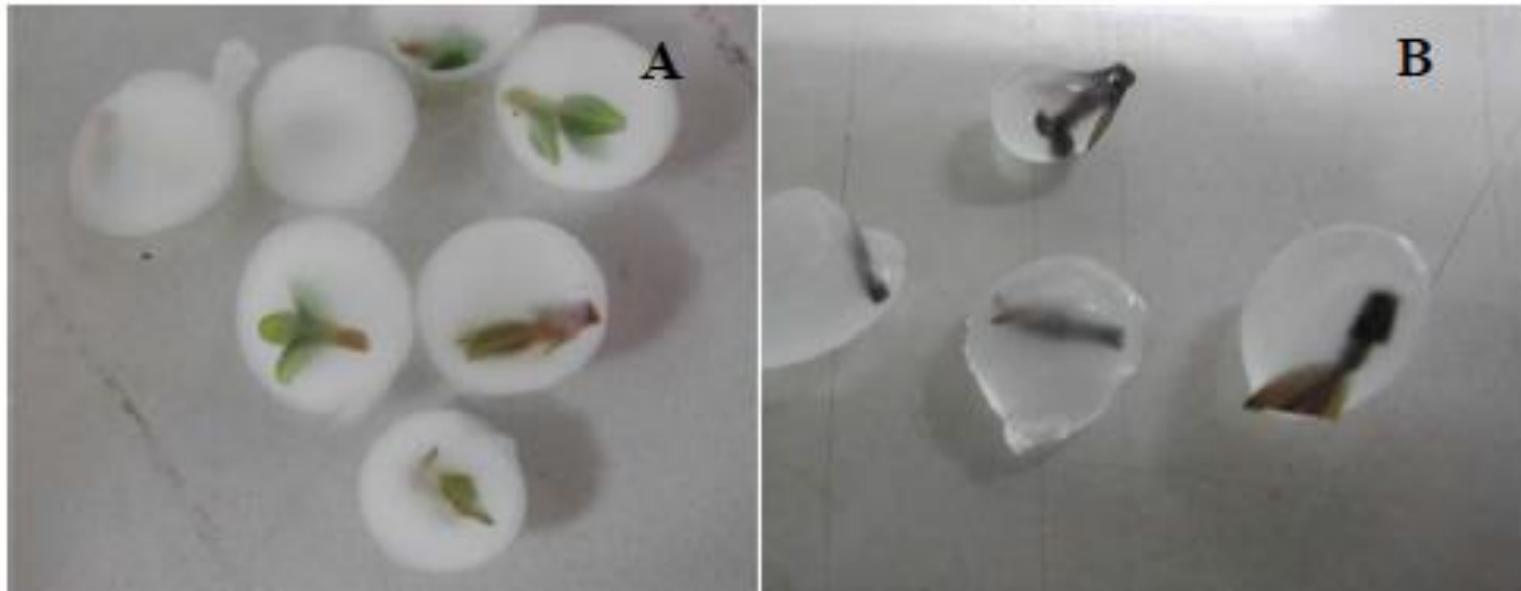
Sucesso da técnica depende da combinação e eficiência das seguintes etapas:

- Pré-resfriamento
- Resfriamento
- Reaquecimento



Fonte: <http://biologiaparabiologos.com.br>

- Criopreservação de gemas apicais encapsuladas



Criopreservação de gemas apicais de mangabeira encapsuladas. Após o descongelamento e cultivados em meio de cultura por 7 dias. Fonte: Nogueira (2010).

Perspectivas e desafios

- ✓ Conservação *ex situ* do germoplasma de espécies recalcitrantes, com controle sanitário;
- ✓ Comercialização e conservação de sementes sintéticas

Protocolos exigem a otimização de inúmeras variáveis, incluindo o tamanho da amostra, o tipo e a concentração do crioprotetor, o teor de água da amostra durante o congelamento e descongelamento.

evaniagalvao@ufsj.edu.br

