



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

Provas públicas para Professor-Coordenador
Lição a que se refere a alínea a) do Artº 26º do Decreto-Lei nº 185/81 de 1 de Julho

Área científica de Biologia Vegetal

CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS
Princípios e aplicações

(Sumário pormenorizado)

José Carlos Dias Duarte Gonçalves

Castelo Branco, 1999

Nota prévia

O sumário pormenorizado da lição que agora se apresenta, insere-se na disciplina de Biologia Celular, disciplina do 1º ano, 1º semestre, da estrutura curricular dos cursos de Licenciatura em Ciências Agrárias, Ramo Agrícola e Ramo Animal, de Engenharia Florestal e de Engenharia do Ordenamento e Recursos Naturais, cujo programa se encontra em anexo.

Trata-se de uma disciplina de carácter geral onde são ministrados aos alunos princípios e conceitos básicos sobre a diversidade do mundo vivo, constituintes, organização e funcionamento celular, tendo em vista a compreensão de uma forma integrada das inter-relações entre seres e do funcionamento celular enquanto unidade estrutural da sua constituição.

O ponto do programa que agora nos propomos abordar, “Cultura de tecidos vegetais: princípios e aplicações”, surge com intenção de proporcionar aos alunos alguns aspectos de aplicação dos conhecimentos já obtidos permitindo-lhes a percepção da importância dos mecanismos *per se* no funcionamento e nas respostas dos seres vivos de acordo com todos os factores que sobre eles exercem influência. Em concreto, é intenção deste ponto permitir aos alunos uma primeira abordagem de modelos de desenvolvimento vegetal e de que forma eles podem ser utilizados não só para a sua própria compreensão mas, também, alertar os alunos para potenciais aplicações destas metodologias que são hoje meios indispensáveis noutras áreas do saber. Este aspecto permitirá estabelecer uma ligação com futuras disciplinas curriculares, como sejam a Genética, a Fisiologia e Nutrição Vegetal, a Ecofisiologia, as Técnicas de Melhoramento Florestal, o Melhoramento Vegetal e as Tecnologias de Multiplicação de Plantas, de acordo com os respectivos cursos, e onde estes temas serão retomados e desenvolvidos tendo em vista as suas especificidades.

Trata-se, contudo, da apresentação de assuntos em que os alunos poderão deparar com algumas dificuldades de compreensão, uma vez que temos consciência que para o seu global entendimento e percepção das suas potenciais implicações, tornava-se necessário que os alunos já tivessem conhecimentos que apenas irão ser adquiridos posteriormente, em especial nas disciplinas atrás referidas. No entanto julgamos que esta é uma questão de dialéctica, inerente ao próprio sistema de ensino/aprendizagem,

isto é, a interdependência e a interligação entre matérias ao longo de uma formação global de um curso superior.

Como última referência uma breve explicação. O conteúdo deste ponto que irá ser apresentado durante sessenta minutos, em situação real de ensino está programado para duas a três horas, uma vez que consideramos de grande importância a participação e intervenção dos alunos, quer por iniciativa própria, quer por iniciativa do docente, numa tentativa de os manter sempre que possível com uma atitude activa e não de meros espectadores. Além disso permitirá ao docente ir resolvendo alguns pequenos problemas de compreensão a que atrás fizemos referência.

Sumário

1. PRINCÍPIOS E CONCEITOS BIOLÓGICOS DA CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

Referência breve a alguns conceitos biológicos que suportam a possibilidade de manter em meios de cultura artificiais estruturas vegetativas, tais como, células, tecidos e órgãos.

Capacidade de totipotência das células vegetais.

Necessidades nutritivas: composição e formulação de meios nutritivos.

Condições físicas para desenvolvimento de estruturas vegetativas.

Referência breve a algumas das descobertas mais relevantes nesta área de conhecimentos.

2. A PRODUÇÃO DE PLANTAS

Referência aos diferentes sistemas de obtenção de plantas, via seminal ou vegetativa; razões da sua utilização.

Propagação vegetativa por cultura de tecidos vegetais – micropropagação.

Fases e características da micropropagação.

Principais vantagens e limitações.

Principais métodos de micropropagação: organogénese (rebentamento adventício e embriogénese somática) e desenvolvimento axilar.

Caso estudo: micropropagação de castanheiro por rebentamento axilar.

3. PRODUÇÃO DE METABOLITOS SECUNDÁRIOS

Conceito de metabolito secundário.

Principais grupos químicos.

Limitações e perspectivas.

4. CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA

Importância da biodiversidade e sua preservação.

Metodologias convencionais e sistemas *in vitro*.

Vantagens e limitações dos sistemas *in vitro*.

Fases e sistemas da conservação *in vitro*.

Caso estudo: conservação *in vitro* a 4 °C de cerejeira.

5. MELHORAMENTO VEGETAL

Objectivos do melhoramento.

Metodologias convencionais *vs* novas tecnologias.

Novas tecnologias: variabilidade somaclonal e engenharia genética.

Relações entre a biologia celular (molecular) e a engenharia genética.

Principais objectivos e princípios moleculares base.

Aplicações e perspectivas futuras – impacto no ambiente e na indústria.

6. ESTUDOS DE FISILOGIA

Os sistemas de cultura de tecidos como sistemas modelo controlados.

Referência a campos de aplicação.

Caso estudo: rizogénese em rebentos de castanheiro regenerados *in vitro*.



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

Disciplina de: **BIOLOGIA CELULAR** - 1º Ano / 1º Semestre

Carga horária: 2 h Teóricas + 2 h Práticas

Cursos de Licenciatura em: Ciências Agrárias, Ramo Agrícola e Animal
 Engenharia Florestal
 Engenharia do Ordenamento e Recursos Naturais

Responsável: Doutor José Carlos Gonçalves (Prof. Adjunto)
Docentes: Eng^a Leopoldina Rosa (Prof^a. Adjunta)
 Eng^o Carlos Reis (Prof. Adjunto)
 Eng^a Teresa Coelho (Assistente 1º Triénio)

Programa teórico

1. INTRODUÇÃO: A BIOLOGIA NO ÂMBITO DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DO AMBIENTE
 Meio biológico e meios envolventes

2. BASE MOLECULAR DA VIDA
 Origem química da vida
 Moléculas orgânicas

3. CLASSIFICAÇÃO DOS SERES VIVOS
 Diversidade das características estruturais e funcionais dos seres vivos
 Grandes grupos de seres vivos

4. ESTRUTURA E ORGANIZAÇÃO DA CÉLULA

- Conceito de célula
- Célula procariota e eucariota
- Célula animal e célula vegetal
- Organismos celulares e vírus

5. ULTRAESTRUTURA E FUNÇÃO DOS ORGANITOS CELULARES

- Membrana plasmática
- Citosol
- Mitocôndrio
- Plastos
- Microcorpos - Peroxissomas e Glioxissomas
- Reticulo endoplasmático liso e rugoso
- Ribossomas
- Aparelho de Golgi
- Vacúolos
- Lisossomas
- Citoesqueleto: microtúbulos, microfilamentos e filamentos intermédios
- Cílios e flagelos
- Parede celular
- Núcleo

5.1. Transporte de materiais através da membrana

- Difusão simples
- Difusão facilitada
- Transporte activo
- Endocitose e exocitose

5.2. A energia celular

- ATP e o conceito de energia
- Seres autotróficos e heterotróficos
- Fotossíntese
- Fotorrespiração
- Características agronómicas das plantas C3, C4 e CAM
- Respiração e fermentação

5.3. *Divisão celular*

Características morfológicas do núcleo em divisão

Mitose

Meiose

Ciclo celular

5.4. *Visão integrada das funções celulares*

6. BASE MOLECULAR DA HEREDITARIEDADE

Estrutura e replicação do DNA

DNA e síntese de proteínas

Código genético

Controlo e expressão génica

7. CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

Princípios que suportam a cultura de tecidos

Principais aplicações

Produção de plantas

Produção de metabolitos secundários

Conservação de germoplasma

Melhoramento vegetal

Estudos de fisiologia

Programa prático

1. DIMENSÕES EM BIOLOGIA

Referência às dimensões do material biológico e unidades de medida

2. INSTRUMENTOS E TÉCNICAS USADAS EM CITOLOGIA

Microscopia óptica

Constituição e características do microscópio óptico

Ampliação total, poder e limite de resolução

Tipos de microscopia óptica

Cuidados de utilização do microscópio óptico

Microscopia electrónica

Princípios gerais da microscopia electrónica por transmissão e por varrimento

Técnicas de preparação do material biológico para observação em microscopia

Fixação, inclusão, microtomia, coloração ou contrastação e montagem

3. DIVERSIDADE CELULAR

Observação microscópica de diferentes estruturas ao nível celular do mundo vivo

Células da epiderme de *Allium cepa* L.

Células da epiderme do caule de *Tradescantia* spp.

Seres unicelulares em gota pendente

Bactérias do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*)

Bactérias (*Rhizobium* spp.) em nódulos de raízes de leguminosas

4. PERMEABILIDADE DIFERENCIAL EM CÉLULAS VIVAS

Experiências em células de *Elodea* spp. – efeito da concentração

Experiências em leveduras – efeito da temperatura

5. ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR

Técnicas citológicas possíveis de usar

Coloração pelo floroglucinol.

Observação em campo escuro

6. FOTOSSÍNTESE

Determinação por espectrofotometria dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total em folhas mantidas à luz e no escuro

7. OBSERVAÇÃO DE FIGURAS DE MITOSE

Execução da técnica de "squash" aplicada a vértices vegetativos da raiz da cebola (*Allium cepa* L.)

8. OBSERVAÇÃO DE FIGURAS DE MEIOSE EM PREPARAÇÕES DEFINITIVAS

9. AULA MULTIMÉDIA SOBRE BIOLOGIA CELULAR

10. CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

Preparação de um meio de cultura

Procedimentos para trabalhar em condições assépticas

Bibliografia recomendada

- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. ; Watson, J. D. (1989) *Molecular Biology of the Cell*. 2ª ed., Garland Publishing Inc., New York.
- Azevedo, C. (1999) *Biologia Celular e Molecular*. 3ª ed., Lidel, edições técnicas. Lisboa.
- Berkaloff, A.; Bourguet, J.; Favard, P.; Guinnebault, M. (1977) *Biologia y Fisiologia Celular*. 6ª ed., Editora Omega, Barcelona.
- De Robertis, E.; De Robertis Jr., E. M. (1996) *Biologia Celular e Molecular*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Dey, P. M.; Harborne, J. B. (1997) *Plant Biochemistry*. Academic Press, S. Diego.
- George, E. F.; Sherrington, P. D. (1984) *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Ltd., London.
- Junqueira, L.; Carneiro, J. (1991) *Biologia Celular e Molecular*. 5ª ed., Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Ledbetter and Porter (1970) *Introduction to the Fine Structure of Plant Cells*. Springer-Verlag, Berlin.
- Lindsey, K.; Jones, M. G. K. (1989) *Plant Biotechnology in Agriculture*. Open University Press, Milton Keynes.
- Moore, R.; Clark, W. D.; Vodopich, D. S. (1998) *Botany*. 2ª ed., McGraw-Hill, Boston.
- Novikoff, A.; Holtzman, E. (1991) *Células e Estrutura Celular*. 5ª ed., Interamericana Editora, Rio de Janeiro.
- Salema, R.; Mesquita, J.; Santos, I. (1980) *Atlas de Ultraestrutura Celular*. Porto Editora, Porto.
- Teixeira, A.; Ricardo, C. (1983) *Fotossíntese*. Didáctica Editora, Lisboa.
- Teixeira, A.; Ricardo, C. (1988) *Mitocôndrio e Metabolismo Respiratório*. Didáctica Editora. Lisboa.
- Viegas, W.; Cecílio, L. M. (1998) *Biologia Vegetal*. Universidade Aberta, Lisboa.