

# UMA PLANTA MODELO

---

## *Kalanchoe daigremontiana*



O gênero *Kalanchoe* (família Crassulaceae, ordem Saxifragales) apresenta algumas interessantes adaptações a climas áridos e quentes, tais como a abertura noturna dos estômatos. Estes permanecem fechados durante o dia, reduzindo a perda de água.

O processo fotossintético se caracteriza por um mecanismo alternativo de fixação de carbono, denominado metabolismo ácido das Crassuláceas (CAM). À noite, quando as plantas abrem os estômatos, o carbono ( $\text{CO}_2$ ) é fixado sob a forma de ácidos. De dia, quando os estômatos estão fechados e a luz fornece o ATP e o NADPH para o ciclo de Calvin, o  $\text{CO}_2$  é liberado dos ácidos orgânicos e incorporado como açúcar. As plantas CAM mantêm uma divisão temporal entre a fase luminosa da fotossíntese e o ciclo de Calvin.

No gênero *Kalanchoe* encontramos espécies que se reproduzem sempre sexualmente, formando flores e sementes. Também encontramos espécies que podem se reproduzir assexualmente mediante a formação, nas margens das

## UMA PLANTA MODELO / *Kalanchoe daigremontiana*

folhas, de embriões e plântulas que ao se desprender e cair no solo, geram as plantas-filhas.

Em algumas espécies, como *Kalanchoe beharensis* (orelha de elefante), portadoras de uma versão do gene LEC1 que permite a formação de sementes, a produção de embriões foliares só acontece induzida por condições de *stress*. Em outras, como *Kalanchoe daigremontiana*, portadoras de uma mutação no gene LEC1 que não lhes permite formar sementes, a reprodução assexual é constitutiva (obrigatória).

Os Kalanchoes apresentam algumas propriedades medicinais e inseticidas, de modo que podem resultar tóxicas quando ingeridas por crianças ou animais de pequeno porte.

No laboratório de ensino, adotamos *Kalanchoe daigremontiana* como planta modelo porque permite desenvolver sem maiores contratemplos todos os estágios da micropropagação: obtenção dos explantes, desinfecção e semeadura *in vitro*; multiplicação mediante sucessivas subculturas, transferência à terra e aclimação.

### BIBLIOGRAFIA

GARCÊS H. M. P. *et al.* Evolution of asexual reproduction in leaves of the genus *Kalanchoe*. PNAS 104:39,2007

MALAJOVICH M.A. e MANN V.S. MALAJOVICH M.A. e MANN V.S. Micropropagação. Guia 80: *O laboratório de ensino*; Guia 85: *A desinfecção dos instrumentos*; Guia90: *A desinfecção dos explantes* e Guia 96: *Os meios de cultivo*. <http://www.bteduc.bio.br>

## ATIVIDADE PRÁTICA

OBJETIVO: reproduzir os principais estágios da micropropagação.

### MATERIAIS

Uma planta de *Kalanchoe daigremontiana*, frascos ou tubos de ensaio com meio de cultivo\* estéril, 1 azulejo limpo, 1 peneira, 1 pinça, 1 faca ou bisturi, álcool 70<sup>o</sup>, Clorin 10 (Dicloro-S-Triazinetrione de sódio; 10,1 em cloro ativo) \*\*, béquer de 1 litro, água destilada, copos plásticos pequenos com terra de jardim, filme de PVC (Rolopac), vasos com terra de jardim.

\* O meio de cultivo é uma solução de sais minerais gelificado com ágar (0,7%). Não é necessário acrescentar sacarose ou açúcar cristal, nem água de coco. (Guias 111: *Micropropagação: meios clássicos* e 112: *Micropropagação: meios alternativos*).

\*\* Clor-in 10 é um produto comercial para a desinfecção de hortifrutícolas. Dissolver uma pastilha em 500 ml de água, como indicado pelo fabricante. Não é necessário enxaguar. Utilizar água destilada na desinfecção dos explantes e água da torneira para desinfetar a peneira.

### PROCEDIMENTO

#### Estágio 1: Separação dos explantes e sementeira *in vitro*

Antes de começar: Desinfetar a pinça em álcool 70<sup>o</sup> e a peneira por imersão de pelo menos 20 minutos em uma solução de Clor-in 10, preparada dissolvendo uma pastilha em 500 ml de água.

1. Separar os explantes: retirar embriões foliares da planta ou cortar alguns fragmentos de folha.
2. Desinfetar os explantes por imersão em uma solução de Clor-in 10, preparada dissolvendo uma pastilha em 500 ml de água destilada. Mexer continuamente.
3. Eliminar com a peneira a solução desinfetante, retendo os explantes.
4. Com a pinça, transferir os explantes aos frascos contendo o meio de cultivo.
5. Incubar os explantes na luz, a temperatura ambiente.

## UMA PLANTA MODELO / *Kalanchoe daigremontiana*

### Estágio 2: Multiplicação (Opcional)

A multiplicação é possível quando o explante inicial é um fragmento de folha sobre o qual se desenvolveram embriões foliares, como na imagem ao lado.

Repicar assepticamente os embriões transferindo-os a frascos com meio de cultivo estéril da mesma composição. Incubar na luz.



### Estágio 3: Transferência à terra

Lavar bem as plantinhas para retirar o excesso de ágar e transferi-las aos copos com terra. Depois de um tempo repetir o procedimento, desta vez aos vasos definitivos que serão colocados no exterior.

## NOSSO COMENTÁRIO

*Kalanchoe daigremontiana*, nossa planta modelo, cresce em um meio de cultivo sem açúcar, de modo que o número de contaminações é muito baixo. Em vez de centralizar a atividade na composição do meio, como é feito habitualmente, preferimos insistir nos estágios da micropropagação. Por outro lado, o uso de Clor-in 10 simplificou enormemente a tarefa de desinfecção dos explantes.

Obtivemos um bom número de clones com nossa turma do primeiro ano do Curso Médio Técnico de Biotecnologia. As diferentes etapas do trabalho se encontram ilustradas nas figuras anexas.

## COMO MONTAR UM PROJETO

Acompanhar o crescimento em meios de cultivo de diferente composição.

Figura 1. Crescimento in vitro dos explantes. Acima, de esquerda à direita: embrião foliar, folha e fragmento de folha. Abaixo, os mesmos cultivos depois de um tempo.



## UMA PLANTA MODELO / *Kalanchoe daigremontiana*

Figura 2. Incubação dos embriões foliares



Figura 3. Transferência a terra



## UMA PLANTA MODELO / *Kalanchoe daigremontiana*

Figura 4. Aclimatação



Figura 5. Clones de *Kalanchoe daigremontiana*, preparados pela turma do primeiro ano do Curso Médio Técnico de Biotecnologia, na exposição montada em ocasião da Semana Nacional de Ciência e Tecnologia 2013 no Instituto de Tecnologia ORT do Rio de Janeiro.

