

# MICROPROPAGAÇÃO

---

## CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS PREFLORAIS DE COUVE-FLORES



A couve-flor (*Brassica oleraceae* var. *botrytis*, família Brassicaceae) é uma variedade da couve silvestre, originada no Mediterrâneo oriental entre 1500 e 2000 anos atrás. Trata-se de uma planta herbácea bienal, que se reproduz por sementes.

A parte comestível (“cabeça”) é uma inflorescência imatura arredondada, inserida em um caule curto. A cor é branca, amarela ou creme, mas também são comercializadas couves-flores verdes ou roxas. Por ser um órgão meristemático, a cabeça desenvolve caules com flores amarelas ou brancas quando a planta amadurece. Essas inflorescências podem chegar a medir 100 cm.

Em condições experimentais, os meristemas reverterem para a fase vegetativa e se desenvolvem como brotos folhados. As plantas regeneradas a partir desses brotos se usam para a produção de sementes.

## MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DA COUVE-FLOR

Por ser um material barato e fácil de obter, vários protocolos para o cultivo *in vitro* da couve-flor no laboratório de ensino circulam na Web. As poucas diferenças entre eles parecem depender da estrutura do laboratório e da experiência pessoal.

### BIBLIOGRAFIA

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>

THE ASSOCIATION FOR SCIENCE EDUCATION. Experimenting with industry. 13. Plant Tissue Culture. SCSST, 1985.

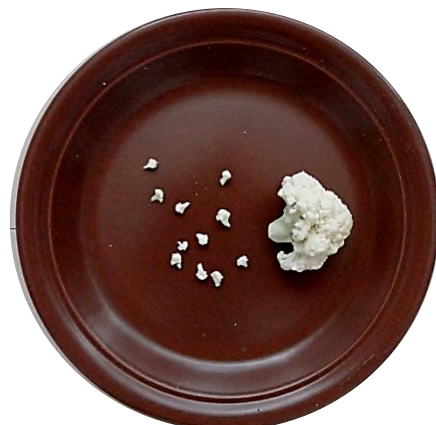
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/ncbe/protocols/PDF/PTC2002.pdf>

Esta é a primeira publicação destinada ao ensino, agora na Web.

## ATIVIDADE PRÁTICA

### OBJETIVO

Cultivo *in vitro* da couve-flor a partir dos meristemas preflorais.



### MATERIAIS

Couve-flor, azulejo, faca, 1 frasco com água sanitária diluída à metade, 3 frascos com água estéril, placa de Petri com papel toalha estéril, bisturi estéril, 6 tubos de ensaio ou frascos pequenos contendo meio nutriente\* estéril, palitos estéreis, bico de Bunsen (opcional).

\* O meio nutriente (Murashige&Skoog ou Taji) é uma solução de sais minerais às quais se adiciona sacarose (1 a 5%), ágar (0,7%) e água de coco, como indicado nos Guias 111: *Micropropagação: meios clássicos* e 112: *Micropropagação: meios alternativos*.

### PROCEDIMENTO

A limpeza do lugar de trabalho é fundamental, assim como a higiene das mãos. O lugar de trabalho será desinfetado com álcool 70<sup>o</sup>. Os participantes lavarão muito bem as mãos e os antebraços com água e sabão, antes de passar álcool 70<sup>o</sup>. Cuidado! O álcool é inflamável.



Esterilizar o material contaminado antes de descartá-lo.

#### A. ESTABELECIMENTO DE UMA CULTURA ASSÉPTICA

##### 1. Separação dos explantes

Em um azulejo bem limpo, dissecar com uma faca várias florezinhas de couve-flor (tamanho 3 x 5 x 5 mm). Lavar muito bem esses explantes.

##### 2. Desinfecção da superfície dos explantes

Passar rapidamente o material por álcool 70<sup>o</sup> e mergulhar o explante durante 10 minutos, em uma solução de água sanitária diluída à metade adicionada de 1 gota de detergente. Agitar suavemente durante todo o processo de desinfecção.

## MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DA COUVE-FLOR

### 3. Lavagens em água destilada estéril

Fazer três lavagens de 1, 3 e 5 minutos, com agitação suave.

### 4. Estabelecimento da cultura

Em condições assépticas, transferir os explantes aos recipientes com meio nutriente.

### 5. Incubação

A 20-28°C, na luz.

### 6. Acompanhamento

Registrar semanalmente as observações.

## B. REGENERAÇÃO DA PLANTA

Havendo crescimento e propagação, dividir o material e transferi-lo a um meio fresco, de modo a obter numerosas subculturas. Uma vez desenvolvidas, transferir as plântulas das subculturas para um meio de enraizamento sem água de coco onde, além de desenvolver raízes, enrijecerão e começarão a fotossintetizar. Sempre em condições assépticas.

Antes de transferir a planta para o solo, eliminar por lavado o ágar e os vestígios de açúcar. Controlar a humidade por um tempo e proteger as plantas da iluminação solar direta até sua adaptação às condições ambientais.



### NOSSO COMENTÁRIO

A primeira medida é procurar no comércio uma couve-flor fresca, compacta e firme, sem manchas amarronzadas. Em caso de não encontrar, substituir a couve-flor por brócolis, que é outra variedade de *Brassica oleraceae* da qual se consomem os botões florais (Figura 1).



A segunda é uma boa desinfecção do explante, em água sanitária diluída à metade. Mesmo com uma aparência boa, uma couve-flor proveniente da prateleira de um supermercado pode estar muito contaminada, sendo às vezes necessário aumentar o tempo de imersão no desinfetante e lavar com Clor-in em vez de água destilada estéril. Depois desse tratamento convém cortar a extremidade queimada do explante.

Contudo e a pesar de todos os cuidados, as contaminações poderão aparecer uma semana depois da sementeira, uma vez que o explante crescer e começar a se abrir permitindo o contato com o meio de reentrâncias que não foram alcançadas pelo desinfetante.

As culturas e subculturas bem estabelecidas são espetaculares (Figura 2). Além do crescimento de folhas e raízes, em alguns casos se observa a aparição de antocianinas que dão ao explante uma cor roxa muito bonita (Figura 3).

### COMO MONTAR UM PROJETO

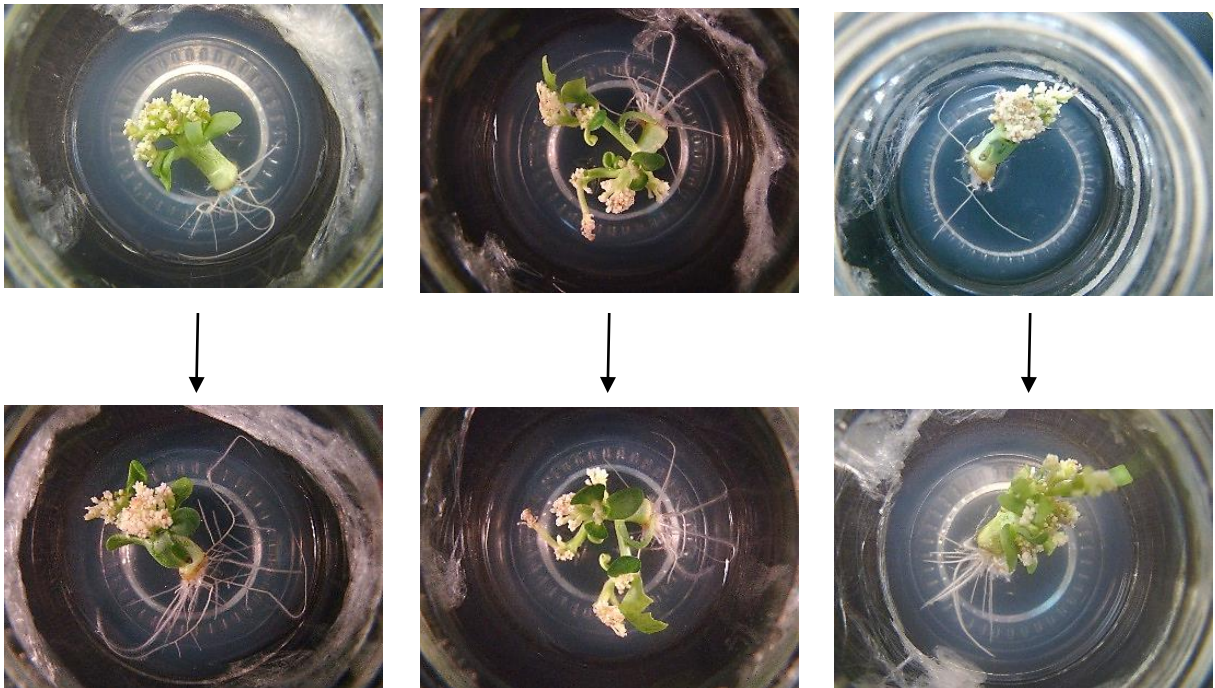
Comparar o crescimento com diferentes meios.

## MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DA COUVE-FLOR

Figura 1: Crescimento de explantes de brócolis.



Figura 2: Crescimento de explantes de couve-flor, fotografados com 10 dias de diferença.



## MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DA COUVE-FLOR

Figura 3: Produção de antocianinas em explantes de couve-flor.

