

MICROPROPAGAÇÃO

CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE ALHO

O alho (*Allium sativum*, família Amaryllidaceae) é uma monocotiledônea, originária da Ásia. O bulbo, ou *cabeça de alho*, está formado por bulbilhos ou *dentes de alho* (Figura 1).

Devido às propriedades aromáticas conferidas pela alicina, esses bulbilhos tem-se tornado um condimento indispensável na culinária de vários povos.

Com algumas propriedades antimicrobianas, o alho também é utilizado na medicina popular para o controle da pressão sanguínea, do colesterol, da doença coronária e da aterosclerose.

A propagação é assexuada, a partir dos bulbilhos. No alho-semente, consegue-se eliminar os vírus por cultivo *in vitro* dos meristemas próximos ao disco caulinar basal. Existem diversas estratégias de melhoramento genético, baseadas na informação existente nos Bancos de Germoplasma.

Figura 1. O alho (*Allium sativum*).

Acima: cabeça de alho; no meio: corte da cabeça de alho; abaixo: corte longitudinal de um dente de alho, mostrando o disco caulinar basal.



BIBLIOGRAFIA

MALAJOVICH M.A. e MANN V.S. Micropropagação. Guia 80: *O laboratório de ensino*; Guia 85: *A desinfecção dos instrumentos*; Guia 90: *A desinfecção dos explantes* e Guia 96: *Os meios de cultivo*. <http://www.bteduc.bio.br>

PEAT G. AND JONES M. A protocol for rapid, measurable plant tissue culture using stem disc meristem micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.). SSR 93(345), 2012.

MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE ALHO

ATIVIDADE PRÁTICA

OBJETIVO

Cultivar, *in vitro*, explantes de disco caulinar basal de alho.

MATERIAIS

Um dente de alho, bisturi ou faca afiada, azulejo, frasco desinfetante com água sanitária diluída à metade, 3 frascos com água destilada estéril, pinças, papel toalha, uma placa de Petri com papel toalha estéril, 4 frascos com meio nutriente estéril *, palitos estéreis, álcool 70^o, bico de Bunsen (opcional).

* O meio nutriente 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^o. Cuidado! O álcool é inflamável. Os participantes lavarão muito bem as mãos e os antebraços com água e sabão, antes de passar álcool 70^o.

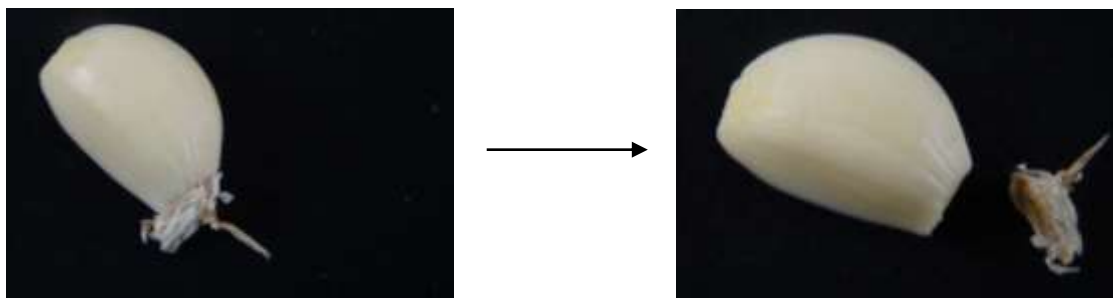


Esterilizar o material contaminado antes de descartá-lo.

PROCEDIMENTO

1. Separação dos explantes

Descascar o bulbilho (dente de alho) e cortar rente à parte seca da base, como observado na figura abaixo.



MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE ALHO

2. Desinfecção da superfície dos explantes

Esterilizar o bulbilho por imersão, durante 20 minutos, em água sanitária diluída à metade adicionada de uma gota de detergente.

3. Lavagens em água destilada estéril

Fazer 3 lavagens de 1, 3 e 5 minutos, agitando suavemente.

4. Estabelecimento da cultura

- Em condições assépticas, levar os dentes de alho a uma placa de Petri contendo papel toalha estéril.
- Com um bisturi afiado, separar uma lâmina de 2 mm no disco basal e cortá-la ao meio.
- Transferir os dois explantes para o frasco com meio de cultivo estéril, mantendo a polaridade de um dos fragmentos e invertendo a do outro.

5. Acompanhamento

Observar semanalmente o crescimento dos explantes.

MICROPROPAGAÇÃO / CULTIVO *IN VITRO* DE MERISTEMAS DE ALHO

NOSSO COMENTÁRIO

Em relação à bibliografia citada, respeitamos a indicação de colocar os dentes de alho na geladeira durante pelo menos uma semana antes de dar início à atividade prática. Não acrescentamos o antifúngico Nipagin (metilparabeno) nos lavados, como recomendado pelos autores, mas temos testes em andamento.

A vantagem de começar pela esterilização do dente d'alho está em conseguir eliminar logo os contaminantes. Mesmo que o processo danifique os tecidos externos, isso não parece afetar a lâmina caulinar basal que está dentro do bulbilho.

Esta atividade exige tempo de preparação, porque demanda bastante material estéril, mas o resultado é excelente. Após algumas semanas, observamos o crescimento dos explantes de alho, a partir da região meristemática do disco basal do bulbilho (Figura 2).

COMO MONTAR UM PROJETO

Experimentar o procedimento com alho-porró ou cebola.

Modificar a composição do meio nutriente.

Figura 2. Explantes de disco caulinar basal de bulbilho de alho cultivados *in vitro*.

