

MICROPROPAGAÇÃO

MEIOS DE CULTIVO CLÁSSICOS

Em função de sua complexidade, os meios para o cultivo in vitro de tecidos vegetais podem resultar assustadores para o iniciante. Com algumas variações, os meios mais usados são os seguintes; Murashige&Skoog (1962), White (1963), Gamborg (1968), Nitsch (1951) e Knop (1865).

Contudo, a necessidade de utilizar meios bem definidos se aplica fundamentalmente à pesquisa científica. Para o horticultor ou para o docente essa necessidade é menor e, em muitos casos, os meios alternativos são suficientes para obter bons resultados.

MEIOS DE CULTIVO CLÁSSICOS

1. MEIO DE MURASHIGE&SKOOG

De acordo com o fabricante (Sigma), o meio basal de Murashige e Skoog M5524 contém os macro e micronutrientes da fórmula clássica original. Pode ser complementado com vitaminas, sacarose, ágar, auxinas (IAA) e citocininas de modo a gerar um meio completo para o crescimento dos cultivos de tecidos vegetais.

A formulação demanda 4,3 g de pó por litro de água destilada, na qual se acrescentam 10-50 g de sacarose e 6-8 g de ágar bacteriológico.

Preparação (100ml)

1. Pesar 0,43 g de meio M&S e dissolver em 90 ml de água destilada.
2. Acrescentar 2,5 g de sacarose ou de açúcar cristal.
3. Juntar 0,7 g de ágar bacteriológico e esquentar até que este derreta (*).
4. Avolumar a 100 ml e misturar bem.
5. Dispensar nos frascos uma camada de 2 cm de profundidade.
6. Fechar os frascos e esterilizar na panela de pressão (20 a 25 minutos contados a partir do momento em que a válvula deixa escapar vapor).

(*) O ágar derrete quando temperatura passa de 90°C e solidifica quando a temperatura desce de 50°C.

MICROPROPAGAÇÃO / MEIOS DE CULTIVO CLÁSSICOS

2. VARIAÇÕES DO MEIO DE MURASHIGE&SKOOG

2.1. MEIO DE M&S COM A METADE DA CONCENTRAÇÃO

Por ser um meio muito rico em sais, o meio de M&S pode ser utilizado na metade da concentração anterior. Neste caso a formulação demanda 0,27 g de meio M&S em 100 ml de água destilada, mantendo as mesmas quantidades de sacarose ou açúcar cristal e ágar.

2.2. MEIO DE M&S COMPLEMENTADO COM ÁGUA DE COCO

Extrair, misturar e filtrar a água de 3 cocos verdes. Depois de separada em alíquotas, estas serão guardadas no congelador até o momento de usar.

Preparação da água de coco

Extrair, misturar e filtrar a água de 3 cocos verdes. Depois de separada em alíquotas, estas serão guardadas no congelador até o momento de usar.

Preparação do meio M&S com água de coco (100ml)

1. Pesar 0,43 g de meio M&S e dissolver em 40 ml de água destilada.
2. Acrescentar 2,5 g de sacarose ou de açúcar cristal.
3. Juntar 0,7 g de ágar bacteriológico e esquentar até que este derreta (*).
4. Avolumar a 50 ml e misturar bem.
5. Acrescentar 50 ml de água de coco e misturar bem.
6. Dispensar nos frascos uma camada de 2 cm de profundidade.
7. Fechar os frascos e esterilizar na panela de pressão (20 a 25 minutos contados a partir do momento em que a válvula deixa escapar vapor).

(*) O ágar derrete quando temperatura passa de 90°C e solidifica quando a temperatura desce de 50°C.

Observação: Outras substâncias de origem vegetal interessantes são a água de coco, a polpa de banana e os sucos de tomate, de laranja, de uva e de abacaxi.

BIBLIOGRAFIA

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