

# Microtuberização de *Colocasia esculenta* L. Schott (Araceae) *in vitro*

Cláudia Martellet Fogaça<sup>1</sup>, Delaine Cristina Cordeiro<sup>2</sup>, Teresa Drummond Correia<sup>2</sup>, Marcele Palla Lauriano<sup>2</sup>, Bruno Francisco Sant'Anna-Santos<sup>3</sup>, Fernando Luiz Finger<sup>4</sup> e Wagner Campos Otoni<sup>5</sup>

## Introdução

A família Araceae compreende cerca de 104 gêneros e 3700 espécies. Embora a família ocorra naturalmente em todos os continentes, exceto na Antártica, é predominantemente tropical [1]. Segundo Pedralli *et al.* [2], a nova nomenclatura determina que o inhame (*Colocasia esculenta* L. Schott) passa a ter a denominação definitiva de taro. Por sua rusticidade de cultivo e valor nutricional, o taro tem sido sugerido pela FAO [3], juntamente com outras espécies produtoras de tubérculos e raízes tuberosas, como cultura para aumentar a base alimentar de países em desenvolvimento [4].

O taro é propagado pelo plantio do rizoma-mãe ou central (cabeça) e rizomas laterais (filhos), constituindo os últimos melhores materiais de propagação. A propagação convencional por rizomas exige muito tempo e é onerosa em razão do grande volume de material a transportar e da necessidade de grandes áreas para produção do material propagativo. O método de produção de mudas por divisão de rizomas pode constituir uma alternativa viável para solucionar o problema da escassez de material de plantio e reduzir o tempo e os custos de produção desse material [5]. A indução *in vitro* de microtubérculos tem potencial de oferecer algumas vantagens consideráveis sobre os tubérculos crescidos no solo. Primeiro, é notoriamente difícil o acesso preciso no estágio de desenvolvimento desejado em tubérculos crescidos no solo, particularmente, os primeiros estádios. Em contraste, a rapidez, a sincronia e a reprodutibilidade na localização da iniciação do microtubérculo *in vitro* permitem que o estágio de pós-colheita seja definido precisamente. Segundo, microtubérculos *in vitro* têm grande potencial como um sistema experimental para o fluxo de análises para diferentes ensaios, maior facilidade de obtenção de tubérculos, as quais não podem ser feitas *in situ* [6].

Diante do exposto, objetivou-se induzir o processo de tuberização *in vitro* de *C. esculenta* sob a ação de BAP (6-benzilaminopurina) e diferentes concentrações de sacarose, e, verificar as alterações estruturais ocorridas decorrentes do processo de tuberização.

## Material e métodos

Culturas-estoque de taro foram estabelecidas *in vitro* a partir da excisão de gemas de rizomas-mãe de *C. esculenta* cv. Japonês, obtidas da área experimental da Horta de Pesquisas da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais. Brotos, no terceiro subcultivo (com aproximadamente 40 dias cada), foram utilizados como explantes e inoculados *in vitro* em meio de cultura MS [7], suplementado de mio-inositol (100 mg l<sup>-1</sup>), sacarose (30 g l<sup>-1</sup>) e 2 mg l<sup>-1</sup> de BAP, solidificado com Fitagel (2,3 g l<sup>-1</sup>). O pH dos meios foi corrigido para 5,7 ± 0,1 antes da autoclavagem. O meio de tuberização constou do meio MS suplementado com 5 mg l<sup>-1</sup> de BAP, e diferentes concentrações de sacarose: 30 g l<sup>-1</sup> (controle - T1), 30 g l<sup>-1</sup> (T2), 60 g l<sup>-1</sup> (T3) e 80 g l<sup>-1</sup> (T4). O experimento foi conduzido sob regime luminoso de 16 horas de luz e oito horas diárias de escuro, à temperatura de 27 ± 1°C e irradiância de 50-60 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Foram analisados o comprimento médio da parte aérea (CPA), diâmetro do rizoma (DR) e número médio de brotos (NB).

Amostras do rizoma de taro foram fixadas em FAA<sub>70</sub>, desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato, visando a confecção de lâminas permanentes. Cortes transversais (10 µm de espessura) foram obtidos em micrótomo. Na coloração foi utilizada o azul de toluidina a pH 4,0 para caracterização estrutural e o PAS (ácido periódico/Reagente de Schiff), para polissacarídeos neutros [8]. As lâminas foram posteriormente montadas em Permount. As observações e a fotodocumentação foram realizadas em microscópio de luz Olympus AX70TRF equipado com sistema U-Photo. O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 14 repetições, perfazendo um total de 56 unidades experimentais.

## Resultados

O efeito do regulador de crescimento BAP e das diferentes concentrações de sacarose nas respostas morfogênicas de cultivados *in vitro* em meio MS foram avaliados após 60 dias. No parâmetro CPA, verificou-se diferença significativa entre o tratamento controle e os demais (Tabela 1).

1. Doutoranda do Departamento de Genética, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000. E-mail: claudia\_fogaca@yahoo.com.br

2. Graduandas em Agronomia, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000. 3. Quinto Autor é Doutorando do Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000.

4. Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000.

5. Professor Adjunto do Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Viçosa, MG, CEP 36570-000.

Apoio financeiro: CNPq.

Da mesma forma, obteve-se diferença significativa no parâmetro DR, no qual o tratamento T4 apresentou rizomas de maior tamanho quando comparados ao tratamento T1 (Tabela 1), como também, no parâmetro NB, o qual apresentou maior número nos tratamentos que continham BAP e níveis elevados de sacarose (Tabela 1). Verificou-se, ainda que no T1 houve desenvolvimento normal da parte aérea (Fig. 1A), porém com rizoma reduzido (Fig. 1B); em contraste no T4, houve comprometimento do desenvolvimento da parte aérea e a presença de brotos axilares (Fig. 1C). Anatomicamente, observa-se presença acentuada de grãos de amido no T4 (Figs. 1E e 1F), em contraste com T1 (Fig. D). Além disso, constatou-se diferença no acúmulo de polissacarídeos do T1 (Fig. 1G) para o T4 (Fig. 1H), onde se detectou amiloplastos repletos de grão de amido.

## Discussão

No parâmetro CPA obteve-se desenvolvimento de parte aérea e rizoma reduzidos devido à ação do BAP, o qual controla a orientação do fluxo de carboidratos solúveis e, desta forma, intervém no desenvolvimento dos tubérculos [9], tendo, por conseqüência, maior investimento na parte aérea das plantas cultivadas em meio desprovido de BAP (T1). Verificaram-se respostas semelhantes tanto para DR como NB, isto, provavelmente, decorrente da ação conjunta do BAP e elevada concentração de sacarose. Em condições de campo, o desenvolvimento e a qualidade de rizomas filhos são dependentes da translocação de fotoassimilados até os rizomas, onde ocorre a síntese do amido de reserva [10]. As diferenças anatômicas apresentadas na Fig. 1 ratificam os resultados da ação conjunta do BAP e dos níveis mais altos de sacarose, que favorece o surgimento de brotos (Fig. 1C), como

também, no acúmulo de grãos de amido (Figs. 1E, 1F e 1H).

## Agradecimentos

Aos laboratórios de Pós-Colheita e Progenies e Anatomia Vegetal da UFV.

## Referências

- [1] IAS, INTERNATIONAL AROID SOCIETY. 2003 [Online]. The genera Araceae. Homepage: <http://www.aroid.org/genera/index.html#a>
- [2] PEDRALLI, G.; CARMO, C.A.S.; CEREDA, M. & PUIATTI, M. 2002. Uso de nomes populares para as espécies de Araceae e Dioscoreaceae no Brasil. *Horticultura Brasileira*, 20: 530-532.
- [3] Food and Agriculture of the United Nations (FAO). Post-harvest deterioration of cassava – a biotechnology perspective. FAO: Rome, 1995.
- [4] PEREIRA, F.H.F.P.; PUIATTI, M.; MIRANDA, G.V.; SILVA, D.J.H. & FINGER, F.L. 2003. Caracterização agrônômica da produção de rizomas de clones de taro. *Horticultura Brasileira*, 21: 99-105.
- [5] CARVALHO, E.F. 1991. Propagação de inhame (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) pelo método de divisão de rizomas. *Ciência Agrônômica de Fortaleza*, 22: 61-66.
- [6] VERAMENDI, J.; WILLMITZER, L. & TRETHEWEY, R.N. 1999. *In vitro* grown potato microtubers are a suitable system for the study of primary carbohydrate metabolism. *Plant Physiology Biochemistry*, 37: 693-697, 1999.
- [7] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- [8] McMANUS, J. F. A. 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23: 99-108.
- [9] OMOKOLO, N.D.; BOUDJEKO, T. & TSAFACK TAKADONG, J.J. 2003. *In vitro* tuberization of *Xanthosoma sagittifolium* L. Shott: effects of phytohormones, sucrose, nitrogen and photoperiod. *Scientia Horticulturae*, 98: 337-345.
- [10] PUIATTI, M.; KATSUMOTO, R.; PEREIRA, F.H.F. & BARRELLA, T.P. 2003. Crescimento de plantas e produção de rizomas de taro 'Chinês' em função do tipo de muda. *Horticultura Brasileira*, 21: 110-115.

**Tabela 1.** Comprimento médio da parte aérea (CPA), diâmetro médio do rizoma (DR) e número médio de brotos (NB) em plantas de taro (*Colocasia esculenta*) submetidas a diferentes concentrações de sacarose, aos 60 dias de cultivo *in vitro*.

| TRATAMENTOS                                                      | CPA (cm) | DR (cm) | NB    |
|------------------------------------------------------------------|----------|---------|-------|
| T1 (MSO + 30 g l <sup>-1</sup> de sacarose)                      | 6,8 a    | 0,3 c   | 0,1 b |
| T2 (5 mg l <sup>-1</sup> BAP + 30 g l <sup>-1</sup> de sacarose) | 3,2 b    | 1,1 bc  | 1,8 a |
| T3 (5 mg l <sup>-1</sup> BAP + 60 g l <sup>-1</sup> de sacarose) | 3,2 b    | 1,4 ab  | 2,1 a |
| T4 (5 mg l <sup>-1</sup> BAP + 80 g l <sup>-1</sup> de sacarose) | 2,8 b    | 2,0 a   | 2,5 a |

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 1.** Plantas de taro (*Colocasia esculenta*) obtidas *in vitro* mediante o cultivo em meio MSO e 30 g l<sup>-1</sup> de sacarose (T1) e meio MS com 5 mg l<sup>-1</sup> BAP e 80 g l<sup>-1</sup> sacarose (T4). Figs. 1A e 1B. Parte aérea (A) e rizoma (B) de taro no T1. Fig. 1C. Brotos obtidos do T4. Figs. 1D-1H. Seções transversais do rizoma de taro. Fig. 1D. Células do parênquima medular do rizoma do T1. Fig. 1E. Células do parênquima medular repletas de grãos de amido (seta) no T4. Fig. 1F. Rizoma de T4 submetido à luz polarizada comprovando a presença de grãos de amido (seta). Figs. 1G e 1H. Detecção de polissacarídeos com PAS. Fig. 1G. Detalhe das células do parênquima cortical do rizoma (T1). Fig. 1H. Detalhe dos amiloplastos repletos de grão de amido (seta) no córtex (T4).

