

versão

ON LINE

Novas fontes de luz para a micropropagação de morangueiro¹

Paulo Sérgio Gomes da Rocha²

Roberto Pedroso de Oliveira³

Walkyria Bueno Scivittaro³

Ulisses Lyra dos Santos⁴

Introdução

A cultura do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) tem importância econômica e social para milhares de produtores de base familiar dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (OLIVEIRA e SCIVITTARO, 2009). Dentre as cultivares disponíveis para plantio no Brasil, a 'Sabrosa' apresenta frutos muito atrativos, de formato cônico, coloração vermelha-brilhante, polpa firme e sabor agradável (INOTALIS, 2009).

Técnicas de micropropagação têm se mostrado alternativas viáveis para a produção massal de plantas, sendo o morangueiro uma das principais espécies trabalhadas no Brasil e no exterior (OLIVEIRA e SCIVITTARO, 2009). Dentre os reguladores de crescimento utilizados na multiplicação in vitro de morangueiro, a 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido a de maior uso comercial (BRAHM e OLIVEIRA, 2004).

A partir dos avanços tecnológicos ocorridos nos anos 90, os diodos emissores de luz (Light Emitting Diode -

LEDs) passaram a ser utilizados comercialmente nas indústrias automobilísticas, centros cirúrgicos, projetos arquitetônicos, televisões etc (STEELE, 2007). Recentemente, seu uso estendeu-se para ambientes de cultivo de plantas micropropagadas (NHUT et al., 2003), ainda não havendo no Brasil estudos a respeito, sendo as lâmpadas fluorescentes brancas as mais difundidas e utilizadas em laboratórios de cultura de tecidos de plantas. Diante do exposto, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de avaliar o efeito de fontes de luz na multiplicação in vitro de morangueiro, sob níveis crescentes de BAP no meio de cultura.

Metodologia de avaliação

O experimento foi realizado no laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. Como explantes, utilizaram-se brotações de dois subcultivos sucessivos de 35 dias em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) contendo 0,3 mg L⁻¹ de BAP, em sala de crescimento sob lâmpadas fluorescentes brancas.

¹Trabalho de pesquisa realizado com apoio financeiro e bolsas do CNPq

²Eng. Agrôn., Dr., Bolsista de Pós-doutorado CNPq, p.sergio.r@uol.com.br

³Eng. Agrôn., Dr., pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, rpedroso@cpact.embrapa.br, wbscivit@cpact.embrapa.br

⁴Tecnólogo em Sistemas de Telecomunicações, Professor do Instituto Federal Sul-Riograndense, Pelotas, RS, ulisses@pelotas.ifsul.edu.br

As brotações foram inoculadas em frascos de vidro, com capacidade de 250 mL, contendo 40 mL de meio MS acrescido de 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar e cinco concentrações de BAP, estas últimas descritas a seguir, sendo o pH ajustado para 5,8 após a adição do ágar. A autoclavagem foi realizada à temperatura de 121°C a 1,5 atm, por 20 minutos. Nessas condições foram conduzidos três subcultivos de 35 dias sob fontes variáveis de luz, sob fotoperíodo de 16 horas, 25 ± 2 °C e 20 μmol m⁻² s⁻¹.

Os tratamentos compreenderam combinações de concentrações de BAP no meio MS (0; 0,3; 0,6; 0,9; e 1,5 mg L⁻¹) e de fontes de luz [LED azul-EDEB 3LA1 470 nm, LED verde-EDET 3LA1 530 nm, LED vermelho-EDER 3LA3 630 nm, lâmpada fluorescente Growlux e lâmpada fluorescente branca (tratamento controle)] durante três subcultivos dos explantes de morangueiro. Os subcultivos foram dispostos em delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 5x5, com seis repetições. As unidades experimentais foram constituídas por frascos contendo cinco explantes.

Ao final de cada subcultivo, avaliaram-se o número e o comprimento médio das brotações formadas por explante. Após as avaliações, explantes com as mesmas características daqueles usados no primeiro subcultivo foram inoculados em meio de cultura fresco de igual tratamento. Ao final do terceiro subcultivo, independentemente da concentração de BAP do meio de cultura, coletaram-se amostras de folhas das brotações obtidas sob diferentes fontes de luz (100 mg de tecido foliar), para quantificar os teores de carotenóides e de clorofilas a e b. A quantificação dos pigmentos foi realizada por espectrofotometria (clorofila a = 663 nanômetros, clorofila b = 645 nanômetros, carotenóides = 470 nanômetros e controle = acetona 80%), segundo LICHTENTHALER (1987).

Os resultados relativos a cada subcultivo foram submetidos à análise de variância, comparando-se as médias do fator fonte de luz pelo teste de Duncan a 5% e do fator concentração de BAP no meio de cultivo MS, por análise de regressão polinomial ($p < 0,05$). Para a análise estatística, os dados da variável número de brotações foram transformados em raiz quadrada de ($x + 0,5$).

Resultados obtidos com a pesquisa

Nos três subcultivos, determinou-se significância da interação entre os fatores fonte de luz e concentração de BAP no meio de cultivo para as variáveis número e comprimento das brotações de morangueiro.

De forma geral, independentemente da concentração de BAP no meio de cultivo, verificou-se maior número de brotações de morangueiro nos três subcultivos sob os LEDs azuis, vermelhos e verdes do que sob as lâmpadas fluorescentes brancas e Growlux (Figuras 1). LIAN et al. (2002) já haviam comprovado maior peso da matéria fresca e seca de explantes de lírio oriental cv. Pesaro cultivados sob LEDs do que sob lâmpadas fluorescentes. Tais resultados sugerem necessidade de revisão da indicação do uso generalizado de lâmpadas fluorescentes brancas em salas de crescimento de laboratórios de cultura de tecidos.

Nos três subcultivos e para todas as fontes de luz, observou-se resposta quadrática da variável número de brotações de morangueiro ao aumento da concentração de BAP no meio de cultura (Figuras 1A, 1B e 1C). O número máximo de brotações por explante verificado no primeiro (8,4), segundo (9,0) e terceiro (6,1) subcultivos foi obtido com o uso de concentrações estimadas de 1,22; 0,97; e 0,82 mg L⁻¹ de BAP, em cultivos sob LEDs vermelho, verde e vermelho, respectivamente. Desta forma, os LEDs vermelho-EDER 3LA3 e verde-EDET 3LA1 foram as fontes de luz que promoveram maior número de brotações por explante de morangueiro. As concentrações de BAP que otimizaram o número de brotações de morangueiro obtidas por explante nos três subcultivos realizados foram próximas àquela recomendada para a espécie, de 1 mg L⁻¹ de BAP (BRAHM e OLIVEIRA, 2004).

Quanto ao comprimento das brotações, verificou-se, nos três subcultivos, comportamento quadrático quanto ao aumento da concentração de BAP. As brotações de maior comprimento foram obtidas no meio de cultura sem BAP e cultivadas sob os LEDs verde-EDET 3LA1 (49,7 mm), vermelho-EDER 3LA3 (40,9 mm) e LED azul-EDEB 3LA1 (48,2 mm), respectivamente no 1º, 2º e 3º subcultivos (Figura 1D, 1E e 1F). De forma geral, independentemente da fonte de luz, o aumento da concentração de BAP no meio de cultura afeta negativamente o crescimento das

brotações por induzir a sua proliferação (BRAHM e OLIVEIRA, 2004).

Quanto ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos, maiores quantidades de clorofilas a ($2,70 \text{ mg g}^{-1}$) e b ($0,87 \text{ mg g}^{-1}$) foram determinadas nas brotações de morangueiro cultivadas sob LEDs vermelho-EDER 3LA3. O conteúdo de carotenóides das brotações cultivadas sob os LEDs vermelho-EDER 3LA3 também foi elevado ($1,33 \text{ mg L}^{-1} \text{ g}$), superando aqueles proporcionados nos cultivos realizados sob LED verde-EDET 3LA1 e lâmpada Growlux, com menores quantidades de carotenóides (Tabela 1). As clorofilas a e b e os carotenóides (pigmentos acessórios) são pigmentos importantes no processo de fotossíntese, estando diretamente relacionados à multiplicação celular e ao crescimento das plantas. As clorofilas são responsáveis pela absorção e envio de energia luminosa para os centros de reação, enquanto os carotenóides atuam como fotoprotetores (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Recomendações

1) Os LEDs vermelho-EDER 3LA3 e verde-EDET 3LA1 são as fontes de luz que promovem maior número de brotações por explante.

2) Concentrações de BAP entre $0,82$ e $1,22 \text{ mg L}^{-1}$, a depender da fonte de luz, são indicadas para a multiplicação in vitro de brotações.

Agradecimentos

Ao CNPq, pelo financiamento do projeto e pela concessão de bolsas.

Referências

- BRAHM, R.U.; OLIVEIRA, R.P. Pontencial de multiplicação in vitro de cultivares de morangueiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 507-510, 2004.
- INOTALIS - Innovación en variedades vegetales. Candonga. Disponível em: < http://inotalis.com/index.php?option=com_content&task=view&id=26&Itemid=57 >. Acesso em: 20 jul. 2009.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomenbranes. In: DOUCE, R.; PACKER, L. (Ed.). *Methods in Enzymology*. Washington: Academic Press, 1987. cap. 1, p. 350-382.
- LIAN, M.L. et. al. Effects of light emitting diodes (LEDs) on the in vitro induction and growth of bulblets of *Lilium oriental* hybrid 'Pesaro'. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 94, p. 365-370, 2002.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NHUT, D.T. et. al. Responses of strawberry plantlets cultured in vitro under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, The Hague, v. 73, p. 43-52, 2003.
- OLIVEIRA, R.P.; SCIVITTARO, W.B. Produção de frutos de morango em função de diferentes períodos de vernalização das mudas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 27, n. 1, p. 91-95, 2009.
- STEELE, R.V. The story of a new light source. *Nature*, London, v. 1, p. 25-26, 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

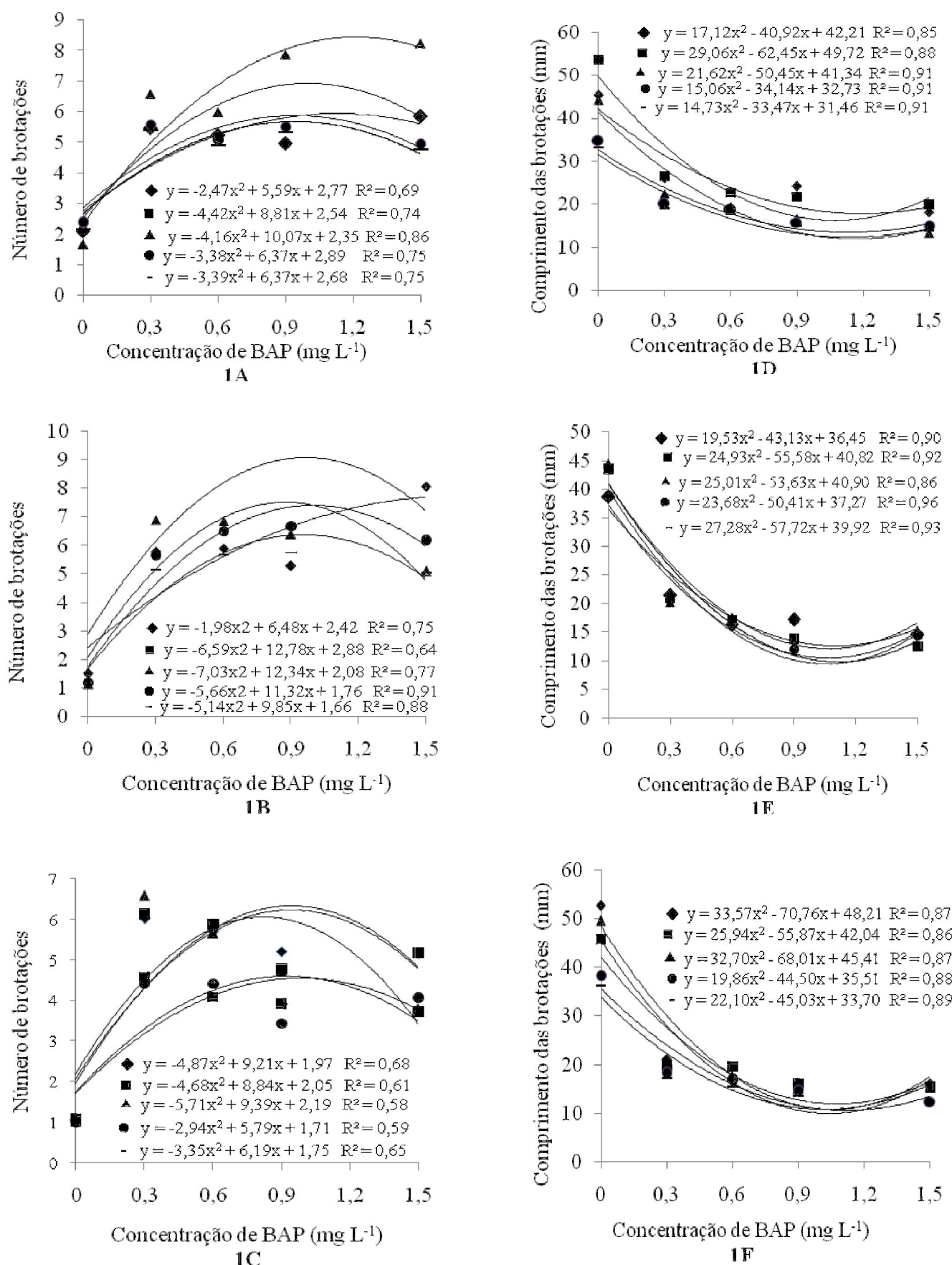


Figura 1. Número de brotações por explante aos 35 (1A), 70 (1B) e 105 dias (1C) e comprimento de brotações de morangueiro cv. Sabrosa (*Fragaria x ananassa* Duch.) aos 35 (1D), 70 (1E) e 105 dias (1F) de cultivo, em função da concentração de BAP no meio MS, para as fontes de luz: LED azul (u), LED verde (n), LED vermelho (l), Lâmpada fluorescente branca (l) e Lâmpada fluorescente Growlux (-).

Tabela 1. Conteúdo de carotenóides e de clorofilas a e b em brotações de morangueiro cv. Sabrosa (*Fragaria x ananassa* Duch.), em função da fonte de luz. Avaliação realizada ao final do terceiro subcultivo.

Fonte de luz	Carotenóides	Clorofila a	Clorofila b
	----- mg g ⁻¹ -----		
LED azul-EDEB 3LA1	1,20 abc	2,36 b	0,70 c
LED verde-EDET 3LA1	0,99 c	1,82 c	0,58 d
LED vermelho-EDER 3LA3	1,33 a	2,70 a	0,87 a
Lâmpada fluorescente branca	1,32 ab	2,39 b	0,80 b
Lâmpada fluorescente Growlux	1,03 bc	1,89 c	0,63 c
CV (%)	4,7	3,1	2,1

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Comunicado Técnico, 219



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: Caixa Postal 403

Fone/fax: (53) 3275 8199

E-mail: sac@cpact.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão 2009: 50 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Ariano Martins de Magalhães Júnior

Secretária- Executiva: Joseane Mary Lopes Garcia

Membros: José Carlos Leite Reis, Ana Paula Schneid Afonso, Giovani Theisen, Luis Antônio Suita de Castro, Flávio Luiz Carpena Carvalho, Christiane Rodrigues Congro Bertoldi e Regina das Graças Vasconcelos dos Santos

Expediente

Supervisor editorial: Antônio Luiz Oliveira Heberlê

Revisão de texto: Marcos de Oliveira Treptow

Editoração eletrônica: Sérgio Ilmar Vergara dos Santos